

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **041921**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.12.15

(21) Номер заявки
201892446

(22) Дата подачи заявки
2017.05.11

(51) Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ

(31) 1608323.0**(32) 2016.05.12****(33) GB****(43) 2019.04.30****(86) PCT/EP2017/061261****(87) WO 2017/194646 2017.11.16**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЮСБ БИОФАРМА СРЛ (BE)

(72) Изобретатель:
Йейтс Эндрю Джеффри, Массант Ян
Иво (GB)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A2-2013148686
WO-A2-2005047327
WO-A1-2012135408
US-A1-2014220027
WO-A1-2009100318
WO-A1-2015121318
WO-A2-2007132480
WO-A1-2014019727

(57) Изобретение относится к фармацевтической композиции, включающей антитело или его фрагмент, подходящие для сушки замораживанием (т.е. лиофилизации). Фармацевтические композиции включают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, от 1 до 20% мас./об. сахарозы, аминокислоту или смесь аминокислот и поверхностно-активное вещество и обеспечиваются в виде фармацевтических композиций для лиофилизации, в виде высушенных замораживанием (т.е. лиофилизированных) композиций, которые могут быть восстановлены в растворителе во время использования, или в виде восстановленных жидких композиций, которые готовы для введения.

B1**041921****041921****B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области фармацевтических композиций. Более конкретно, оно относится к фармацевтической композиции, жидкой или лиофилизированной, включающей антитело, сахарозу, аминокислоту или смесь аминокислот и поверхностно-активное вещество.

Предпосылки создания изобретения

Промышленное получение терапевтических антител является сложной задачей. Для этого требуется увеличение масштаба от процессов, разработанных в лаборатории для получения антител в миллиграммовых количествах, до многокилограммовых количеств. Несмотря на то что антитела являются достаточно стабильными молекулами, при хранении в высокой концентрации в течение некоторого периода времени они тем не менее могут страдать химической и физической нестабильностью. Типичная химическая нестабильность может приводить к дезамидированию, гидролизу, окислению, бета-элиминированию, дисульфидному обмену или восстановлению. Физическая нестабильность может приводить к денатурации, агрегации или преципитации.

Хотя жидкие композиции можно вводить при минимальной предварительной подготовке, их недостатком является то, что они со временем становятся менее стабильными. Жидкие композиции на водной основе являются особенно сложными; вода действует как реагирующее вещество или способствует переносу реагирующих веществ, приводя к химическому разложению и нестабильности белков. Стабилизация белков в жидких композициях в целях избежания или минимизации агрегации, преципитации или разложения остается особо сложной задачей. Агрегация с образованием нерастворимого вещества или осадка представляет особую проблему. Это может вызывать различные проблемы, такие как образование агрегатов, что может приводить к иммунологическим реакциям при введении и/или трудностям при осуществлении надлежащего введения фармацевтической композиции, например, при блокировании устройства доставки.

Антитела можно сформулировать в виде высушенной замораживанием, т.е. лиофилизированной, формы для восстановления в растворителе непосредственно перед введением.

Льофилизированные композиции антител обычно являются более стабильными, чем жидкие композиции на водной основе. Леофилизация способствует достижению высоких концентраций антитела в конечной композиции, уменьшая, таким образом, объем инъекции, а также время инъекции.

Кроме того, сушка замораживанием (лиофилизация) является предпочтительным способом стабилизации для длительного хранения моноклональных антител, которые в противном случае являются нестабильными в жидкой форме. Леофилизация антител при пониженной температуре уменьшает повреждение продуктов и способствует сохранению молекулярной целостности. Это продлевает срок хранения, уменьшает требования к температурному режиму для транспортировки и сохраняет химические и биологические свойства антител.

Антитела, также как другие белки, подвержены денатурации в результате леофилизации в отсутствие стабилизаторов. Различные стабилизаторы, такие как сахара или полиолы, обычно добавляют к композициям для защиты антител против разложения в процессе леофилизации и хранения. Уровень стабилизации, обеспечиваемый сахарами или полиолами, обычно зависит от их концентраций. Повышение концентрации сахара/полиола до определенного уровня в результате может приводить к достижению предела стабилизации или даже к дестабилизации белка в процессе леофилизации, поэтому требуется определенная концентрация стабилизатора по отношению к белку для стабильности при хранении леофилизированного антитела (Chang L. et al., J. Pharm. Sci., 2005, 94:1445-55). Уровень стабилизаторов, используемых для защиты в процессе леофилизации, зависит от композиции препарата, концентрации и физических свойств стабилизатора и его совместимости с антителом. Механизм стабилизации в процессе сушки является таким, что стабилизатор действует как заменитель воды. Взаимодействие между водой и белками является критическим для конформационной стабильности белков. Когда вода удаляется в процессе сушки, стабилизаторы могут образовывать водородные связи с белком, как это делают молекулы воды, сохраняя таким образом природную структуру белка в процессе леофилизации (Chang L. et al., J. Pharm. Sci., 2005, 94:1445-55).

Несмотря на то что леофилизация является правильным выбором для достижения желаемого длительного хранения для антител, нет никакого простого универсального протокола для формулирования композиций антител. Антитела могут становиться нестабильными в процессе леофилизации и/или длительного хранения, агрегаты могут образовываться при восстановлении или для восстановления леофилизированных брикетов может потребоваться слишком много времени. Высокая концентрация стабилизаторов может влиять на физико-химические свойства (т.е. вязкость) конечной композиции.

С учетом вышесказанного в данной области техники остается потребность в обеспечении еще более улучшенных фармацевтических композиций антител, подходящих для леофилизации.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение направлено на решение указанной выше задачи путем обеспечения фармацевтических композиций, включающих антитело или его фрагмент, подходящие для сушки замораживанием (т.е. леофилизации). Получаемые фармацевтические композиции могут обеспечиваться в виде высушенных замораживанием (т.е. леофилизированных) композиций, которые могут быть восстановлены в

растворителе во время использования, или в виде восстановленных жидких композиций, готовых для введения. Восстановление в уменьшенных объемах позволяет получить композицию с высокими концентрациями антитела или его фрагмента с низким уровнем агрегации и временем доставки.

Следующие конкретные варианты осуществления представлены в виде пронумерованных ниже.

1. Фармацевтическая композиция, включающая
 - a) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент;
 - b) от 1 до 20% мас./об. сахарозы;
 - c) аминокислоту или смесь аминокислот; и
 - d) поверхностно-активное вещество.
2. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления 1, отличающаяся тем, что имеет pH от 4,0 до 7,5.
3. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления 1 или вариантом осуществления 2, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент присутствует в концентрации от 1 до 200 мг/мл, предпочтительно от 50 до 150 мг/мл, более предпочтительно от 80 до 140 мг/мл.
4. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, где композиция включает от 5 до 13% мас./об. сахарозы, предпочтительно от 7 до 10% мас./об. сахарозы, более предпочтительно 7% мас./об. сахарозы.
5. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, где
 - a) аминокислота представляет собой гистидин или пролин; или
 - b) смесь аминокислот включает гистидин и пролин.
6. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, где композиция включает от 0,01 до 1,0% мас./об., предпочтительно от 0,01 до 0,5% мас./об., поверхностно-активного вещества.
7. Фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления 6, где поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80.
8. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с человеческим FcRn.
9. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, где антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело.
10. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельную область легкой цепи, определенную в SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, определенную в SEQ ID NO: 8.
11. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, где

композиция включает от 1 до 200 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, от 10 до 50 мМ гистидина, от 10 до 300 мМ пролина, от 1 до 20% мас./об. сахарозы, от 0,01 до 1,0% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6;

предпочтительно композиция включает от 50 до 150 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, от 20 до 40 мМ гистидина, от 50 до 280 мМ пролина, от 5 до 13% мас./об. сахарозы, от 0,01 до 0,5% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6;

более предпочтительно композиция включает от 80 до 140 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6; и

еще более предпочтительно композиция включает 100 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6.
12. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, где композиция дополнительно включает маннит, и/или аргинин, и/или глицин.
13. Лиофилизированная фармацевтическая композиция, включающая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, сахарозу, аминокислоту или смесь аминокислот и необязательно поверхностно-активное вещество.
14. Лиофилизированная композиция в соответствии с вариантом осуществления 13, где композиция включает от 10 до 40% мас./мас. сахарозы, предпочтительно от 20 до 40% мас./мас. сахарозы.
15. Лиофилизированная композиция, включающая антитело, включающее вариабельную область легкой цепи, определенную в SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, определенную в SEQ ID NO: 8, и от 10 до 40% мас./мас. сахарозы.
16. Жидкая фармацевтическая композиция, включающая фармацевтическую композицию в соответствии с любым из вариантов осуществления 13-15 и растворитель.
17. Жидкая фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления 16, где растворителем является вода.

18. Контейнер, включающий лиофилизированную композицию в соответствии с любым из вариантов осуществления 13-15 или жидкую фармацевтическую композицию в соответствии с любым из вариантов осуществления 16 или 17.

19. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-12, лиофилизированная композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления 13-15 или жидкая фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления 16-17 для применения в терапии.

20. Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-12, лиофилизированная композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления 13-15 или жидкая фармацевтическая композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления 16-17 для применения в лечении воспалительных или аутоиммунных заболеваний, выбранных из тяжелой миастении, обыкновенной пузырчатки, нейромиеелита зрительного нерва, синдрома Гийена-Барре, волчанки и тромботической тромбоцитопенической пурпуры, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (CIDP) и их комбинаций.

21. Способ для лечения воспалительного или аутоиммунного заболевания у млекопитающего субъекта, включающий введение фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-12, лиофилизированной композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 13-15 или жидкой фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 16-17, где воспалительное или аутоиммунное заболевание выбрано из тяжелой миастении, обыкновенной пузырчатки, нейромиеелита зрительного нерва, синдрома Гийена-Барре, волчанки и тромботической тромбоцитопенической пурпуры, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (CIDP) и их комбинаций.

22. Способ получения фармацевтической композиции, включающей анти-FcRn антитело, где способ включает следующие стадии:

- (i) получение композиции, включающей анти-FcRn антитело; и
- (ii) добавление 1-20% мас./об. сахарозы.

23. Способ в соответствии с вариантом осуществления 22, где фармацевтическая композиция, полученная на стадии (ii), представляет собой фармацевтическую композицию в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-12.

24. Способ в соответствии с вариантом осуществления 22 или вариантом осуществления 23, где способ дополнительно включает стадию лиофилизации фармацевтической композиции, полученной на стадии (ii).

25. Фармацевтическая композиция, полученная способом в соответствии с вариантом осуществления 24.

26. Способ восстановления фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 13, 14, 15, 24 или 25 путем добавления растворителя, где растворитель предпочтительно представляет собой воду.

27. Жидкая фармацевтическая композиция, полученная способом в соответствии с вариантом осуществления 26.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показано время восстановления после лиофилизации. Время восстановления (время восст.) показано на у-оси в минутах для каждой из композиций (х-ось), табл. 2.

На фиг. 2 - образование агрегатов, определенное при помощи SEC. Общее количество агрегатов показано как % площади на у-оси для каждой из композиций (х-ось), табл. 2.

На фиг. 3 - образование HMW агрегатов, определенное при помощи DLS. Интенсивности (%) нанесены на график на у-оси для каждой композиции (х-ось), табл. 2.

На фиг. 4 показаны варианты, отличающиеся зарядами. Образование кислотных (А) и основных (В) вариантов нанесены на график как функция % площади (у-ось) для каждой композиции (х-ось), табл. 2.

На фиг. 5 показана вязкость. Вязкость (сП) показана на у-оси для каждой композиции (х-ось), табл. 2.

На фиг. 6 - осмоляльность. Осмоляльность (мОсм/кг) показана на у-оси для каждой композиции (х-ось), табл. 2.

На фиг. 7 показано время восстановления после лиофилизации. Время восстановления (время восст.) показано на у-оси в минутах для каждой из композиций (х-ось), табл. 5.

На фиг. 8 - образование агрегатов, определенное при помощи SEC. Общее количество агрегатов как % площади показано на у-оси для каждой из композиций (х-ось), табл. 5.

На фиг. 9 - образование HMW агрегатов, определенное при помощи DLS. Массы (%) нанесены на график на у-оси для каждой композиции (х-ось), табл. 5.

На фиг. 10 показаны варианты, отличающиеся зарядами. Образование кислотных (А) и основных (В) вариантов нанесены на график как функция % площади (у-ось) для каждой композиции (х-ось), табл. 5, включающий анти-FcRn антитело при 100 мг/мл.

На фиг. 11 - варианты, отличающиеся зарядами. Образование кислотных (А) и основных (В) вариантов нанесены на график как функция % площади (у-ось) для каждой композиции (х-ось), табл. 5, вклю-

чающей анти-FcRn антитело при 140 мг/мл.

На фиг. 12 показана вязкость. Вязкость (сП) показана на у-оси для каждой композиции (х-ось), табл. 5.

На фиг. 13 - осмоляльность. Осмоляльность (мОсм/кг) показана на у-оси для каждой композиции (х-ось), табл. 5.

Подробное описание изобретения

Фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением включает антитело или его антиген-связывающий фрагмент, от 1 до 20% мас./об. сахарозы, аминокислоту или смесь аминокислот и поверхностно-активное вещество.

Концентрация антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в фармацевтической композиции может быть от 1 до 200 мг/мл, предпочтительно от 50 до 200 мг/мл, более предпочтительно от 80 до 140 мг/мл.

Предпочтительно антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащееся в фармацевтической композиции в соответствии с изобретением, специфически связывается с человеческим FcRn.

Термин "специфически связывается с человеческим FcRn", "специфически связывающийся с человеческим FcRn" и эквиваленты в контексте настоящей заявки означает, что антитело будет связываться с человеческим FcRn с достаточной аффинностью и специфичностью для достижения биологически значимого эффекта. Выбранное антитело обычно должно обладать аффинностью связывания в отношении человеческого FcRn, например антитело может связываться с человеческим FcRn с Kd значением между 100 нМ и 1 пМ. Аффинность антител можно определить, например, при помощи анализа, основанного на методе поверхностного плазмонного резонанса, такого как BIAcore анализ, твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) и конкурентных анализов (например, RIA). Как определяется в настоящем изобретении, антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающееся с человеческим FcRn, также может связываться с другой молекулой, например супо FcRn, или как, например, в качестве неограничивающего примера в случае биспецифического антитела.

FcRn представляет собой нековалентный комплекс α цепи FcRn мембранного белка и $\beta 2$ микроглобулина ($\beta 2M$). У взрослых млекопитающих FcRn играет ключевую роль в поддержании уровней антител в сыворотке, действуя как рецептор, который связывает и реутилизует антитела IgG изотипа. IgG молекулы эндоцитируются эндотелиальными клетками и, если они связываются с FcRn, возвращаются после транцитоза, например, в кровоток. В отличие от этого IgG молекулы, которые не связываются с FcRn, проникают в клетки и нацеливаются на лизосомальный путь, где они расщепляются. Вариант IgG1, в котором His435 мутирует в аланин, приводит к селективной потере FcRn связывания и существенно уменьшенному времени полужизни в сыворотке (Firan et al., 2001, International Immunology, 13:993).

Антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающееся специфически с человеческим FcRn, предпочтительно также нейтрализует человеческий FcRn.

Термин "нейтрализует" в контексте настоящей заявки относится к антителу, которое ингибирует или по существу уменьшает биологический эффект молекулы, с которой оно специфически связывается. Поэтому выражение "антитело нейтрализует человеческий FcRn" относится к антителу, которое специфически связывается с человеческим FcRn и ингибирует или по существу уменьшает его биологический эффект, например, путем блокирования FcRn связывания с IgG.

Термин "антитело" или "антитела", в контексте настоящей заявки, относится к моноклональным или поликлональным антителам и не ограничивается рекомбинантными антителами, которые получают при помощи рекомбинантных технологий, известных в данной области.

Предпочтительно антитело, содержащееся в фармацевтической композиции в соответствии с изобретением, представляет собой моноклональное антитело, которое специфически связывается с человеческим FcRn.

"Антитело" или "антитела" включают антитела, происходящие из любых видов, в частности млекопитающих, содержащие две по существу полные тяжелые и две по существу полные легкие цепи, человеческие антитела любого изотипа, включая IgA₁, IgA₂, IgD, IgG₁, IgG_{2a}, IgG_{2b}, IgG₃, IgG₄ IgE и IgM, и их модифицированные варианты, антитела отличных от человека приматов, например от шимпанзе, бабуина, резуса или яванского макака, антитела грызунов, например мыши, крысы или кролика; козлиные или лошадиные антитела и их производные или происходящие из вида птиц, такие как куриные антитела, или из вида рыб, такие как акулы антитела. Термин "антитело" или "антитела" также относится к "химерным" антителам, в которых первая часть по меньшей мере одной последовательности тяжелой и/или легкой цепи антитела происходит из первого вида, а вторая часть последовательности тяжелой и/или легкой цепи антитела происходит из второго вида. Химерные антитела, представляющие интерес, включают "приматизированные" антитела, включающие последовательности антигенсвязывающих вариабельных доменов, происходящие из отличного от человека примата (например, мартышковых, таких как бабуин, резус или яванский макак), и последовательности человеческих константных областей.

"Гуманизированные" антитела представляют собой химерные антитела, которые содержат последовательность, происходящую из не-человеческого антитела. Большей частью гуманизированные антитела являются человеческими антителами (реципиентное антитело), в которых остатки из гипервариабельной

области реципиента заменены остатками из гипервариабельной области или определяющей комплементарность области (CDR) не-человеческого вида (донорное антители), такого как мышь, крыса, кролик, курица или отличный от человека примат, имеющими желаемую специфичность, аффинность и активность. В большинстве случаев остатки человеческого (реципиентного) антитела вне CDR, т.е. в каркасной области (FR), дополнительно заменены соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Кроме того, гуманизированные антитела могут включать остатки, которые не присутствуют в реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации осуществляют для дальнейшего улучшения характеристик антитела. Гуманизация уменьшает иммуногенность нечеловеческих антител у человека, облегчая таким образом применение антител для лечения заболеваний человека. Гуманизированные антитела и некоторые другие технологии для их получения хорошо известны в данной области. Термин "антитело" или "антитела" также относится к человеческим антителам, которые могут быть получены в качестве альтернативы гуманизации. Например, могут быть получены трансгенные животные (например, мыши), которые способны после иммунизации продуцировать полный репертуар человеческих антител в отсутствие продукции эндогенных мышиных антител. Например, было описано, что гомозиготная делеция гена соединительной области (JH) тяжелой цепи антитела у химерных и с мутациями в зародышевой линии мышей приводит к полному ингибированию продукции эндогенных антител. Перенос человеческих генов иммуноглобулинов зародышевой линии таким имеющим мутации в зародышевой линии мышам будет приводить к продукции человеческих антител с специфичностью против определенного антигена после иммунизации трансгенного животного, несущего гены иммуноглобулинов зародышевой линии человека, указанным антигеном. Технологии получения таких трансгенных животных и технологии выделения и продуцирования человеческих антител такими трансгенными животными известны в данной области. Альтернативно у трансгенного животного, например мыши, только гены иммуноглобулинов, кодирующие вариабельные области мышиного антитела, заменены соответствующими последовательностями генов вариабельных областей иммуноглобулинов человека. Гены иммуноглобулинов зародышевой линии мыши, кодирующие константные области антитела, остаются неизмененными. Таким образом, эффекторные функции антител в иммунной системе трансгенной мыши и, следовательно, развитие В-клеток по существу не изменяются, что может привести к улучшенному ответу антител при антигенной стимуляции *in vivo*. Сразу после того как у таких трансгенных животных выделяют гены, кодирующие конкретное антитело, представляющее интерес, гены, кодирующие константные области, могут быть заменены генами константной области человека для получения полностью человеческого антитела. Термин "антитело" или "антитела" в контексте настоящей заявки также относится к негликозилированному антителу.

Термин "его антигенсвязывающий фрагмент" или его грамматические варианты в контексте настоящей заявки относится к фрагменту антитела. Фрагмент антитела включает по меньшей мере один домен тяжелой или легкой цепи иммуноглобулина, как известно в данной области, и связывается с одним или несколькими антигенами. Примеры фрагментов антител в соответствии с изобретением включают Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv и scFv фрагменты, а также диатела, триатела, тетратела, минитела, доменные антитела (dAbs), такие как sdAbs, VHH или антитела верблюдовых (например, верблюдов или лам, такие как Нанотела™) и VNAR фрагменты, одноцепочечные антитела, биспецифические, триспецифические, тетраспецифические или мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител, или антитела, включающие, но не ограничивающиеся этим, Fab-Fv или Fab-Fv-Fv конструкции. Фрагменты антител, определенные выше, известны в данной области.

Антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащееся в фармацевтической композиции в соответствии с изобретением, может представлять собой человеческое или гуманизированное антитело, предпочтительно гуманизированное моноклональное антитело, которое специфически связывается с человеческим FcRn.

Более предпочтительно фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением включает (табл. 1)

- 1) антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, которое
 - а) включает
 - CDR-H1, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 1;
 - CDR-H2, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 2;
 - CDR-H3, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 3;
 - CDR-L1, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 4;
 - CDR-L2, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 5; и
 - CDR-L3, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 6; или
 - б) включает вариабельную область легкой цепи, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 8; или
 - в) включает вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности

или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 8;

d) включает переменную область легкой цепи, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 7, и тяжелую цепь, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 11; или

e) включает переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 11; или

2) антитело, которое включает легкую цепь, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, имеющую последовательность, определенную в SEQ ID NO: 10; или

3) антитело, которое включает легкую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 10.

В настоящем описании определяющие комплементарность области ("CDR") определены в соответствии с номенклатурой Кэбота. Номенклатура Кэбота представляет собой стандарт для нумерации остатков в антителе и обычно используется для идентификации CDR областей (Rabat et al. (1991), 5th edition, NIH publication № 91-3242).

Таблица 1

Условное обозначение области и SEQ ID	Аминокислотная последовательность			
CDR-H1 SEQ ID NO: 1	GFTFSNYGMV			
CDR-H2 SEQ ID NO: 2	YIDSDGDNTYYRDSVKG			
CDR-H3 SEQ ID NO: 3	GIVRPFLY			
CDR-L1 SEQ ID NO: 4	KSSQSLVGASGKTYLY			
CDR-L2 SEQ ID NO: 5	LVSTLDS			
CDR-L3 SEQ ID NO: 6	LQGTHFPHT			
Переменная область легкой цепи SEQ ID NO: 7	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCKSSQSLV	GASGKTYLYW
	LFQKPGKAPK	RLIYLVSTLD	SGIPSRFSGS	SGSGTEFTLT
	SSLQPEDFAT	YYCLQGTHFP	HTFGQGTKLE	IK

Вариабельная область тяжелой цепи SEQ ID NO:8	EVPLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAVSGFTFS	NYGMVWVRQA
	PGKGLEWVAY	IDSDGDNTYY	RDSVKGRFTI	SRDNAKSSLY
	LQMNSLRAED	TAVYYCTTGI	VRPFLYWQGG	TLVTVS
Легкая цепь SEQ ID NO:9	DIQMTQSPSS	LSASVGDRTV	ITCKSSQSLV	GASGKTYLYW
	LFQKPGKAPK	RLIYLVSTLD	SGIPSRFSGS	GSSTFTTLTI
	SSLQPEDFAT	YYCLQGTHFP	HTFGQGKLE	IKRTVAAPSV
	FIFPPSDEQL	KSGTASVVCL	LNNFYPREAK	VQWKVDNALQ
	SGNSQESVTE	QDSKDYSTSL	SSTLTLSKAD	YEKHKVYACE
	VTHQGLSSPV	TKSFNRGEC		
Тяжелая цепь SEQ ID NO:10	EVPLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAVSGFTFS	NYGMVWVRQA
	PGKGLEWVAY	IDSDGDNTYY	RDSVKGRFTI	SRDNAKSSLY
	LQMNSLRAED	TAVYYCTTGI	VRPFLYWQGG	TLVTVSSAST
	KGPSVFPLAP	CSRSTSESTA	ALGCLVKDYF	PEPVTVSWNS
	GALTSGVHTF	PAVLQSSGLY	SLSSVTVPS	SSLGKTYTC
	NVDHKPSNTK	VDKRVESKYG	PPCPPCPAPE	FLGGPSVFLF
	PPKPKDTLMI	SRTPEVTCVV	VDVSQEDPEV	QFNWYVDGVE
	VHNAKTKPRE	EQFNSTYRVV	SVLTVLHQDW	LNGKEYKCKV
	SNKGLPSSIE	KTISKAKGQP	REPQVYTLPP	SQEEMTKNQV
	SLTCLVKGFY	PSDIAVEWES	NGQPENNYKT	TPPVLDSDGS
	FFLYSRLTVD	KSRWQEGNVF	SCSVMEALH	NHYTQKSLSL
	SLGK			
Тяжелая цепь Fab SEQ ID NO:11	EVPLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAVSGFTFS	NYGMVWVRQA
	PGKGLEWVAY	IDSDGDNTYY	RDSVKGRFTI	SRDNAKSSLY
	LQMNSLRAED	TAVYYCTTGI	VRPFLYWQGG	TLVTVSSAST
	KGPSVFPLAP	SSKSTSGGTA	ALGCLVKDYF	PEPVTVSWNS
	GALTSGVHTF	PAVLQSSGLY	SLSSVTVPS	SSLGTQTYIC
	NVNHKPSNTK	VDKKEPKSC		

Проиллюстрированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент более подробно описаны в WO 2014019727 (включен в настоящую заявку посредством ссылки).

Молекулы антител обычно можно получить путем культивирования клетки-хозяина, содержащей вектор, кодирующий последовательность антитела, в подходящих условиях, приводящих к экспрессии белка, включающий ДНК, кодирующую молекулу антитела по настоящему изобретению, и выделения молекулы антитела.

Молекула антитела может включать только полипептид тяжелой или легкой цепи, в этом случае только кодирующую полипептид тяжелой цепи или легкой цепи последовательность следует использовать для трансфекции клеток-хозяев. Для получения продуктов, включающих как тяжелые, так и легкие цепи, клеточную линию можно трансфицировать двумя векторами, первым вектором, кодирующим полипептид легкой цепи, и вторым вектором, кодирующим полипептид тяжелой цепи. Альтернативно можно использовать один вектор, который включает последовательности, кодирующие полипептиды легкой цепи и тяжелой цепи.

Антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, которое может быть получено в промышленном масштабе, можно получить путем культивирования эукариотических клеток-хозяев, трансфицированных одним или несколькими векторами экспрессии, кодирующими фрагмент рекомбинантного антитела. Эукариотические клетки-хозяева предпочтительно представляют собой клетки млекопитающего, более предпочтительно клетки яичников китайского хомячка (CHO).

Клетки млекопитающего можно культивировать в любой среде, которая поддерживает их рост и экспрессию рекомбинантного белка, предпочтительно среда представляет собой химически определенную среду, которая не содержит продуктов животного происхождения, таких как сыворотка животных и пептон. Существуют различные среды для культивирования клеток, известные специалистам в данной области, включающие различные комбинации витаминов, аминокислот, гормонов, факторов роста, ионов, буферов, нуклеозидов, глюкозы или эквивалентного источника энергии, присутствующих в подходящих концентрациях, для обеспечения возможности клеточного роста и продукции белка. Дополнительные компоненты клеточных культуральных сред могут быть включены в клеточную культуральную среду при подходящих концентрациях в разные моменты времени в процессе цикла культивирования

клеток, как должно быть известно специалистам в данной области.

Культивирование клеток млекопитающего можно осуществлять в любом подходящем контейнере, таком как встряхиваемая колба или биореактор, который может, но необязательно работать в режиме периодического культивирования с подпиткой, в зависимости от требуемого масштаба производства. Эти биореакторы могут представлять собой реакторы либо с механическим перемешиванием, либо с воздушным подъемом. Доступны различные биореакторы для крупномасштабного производства с емкостью больше чем 1000-50000 л, предпочтительно от 5000 до 20000 или до 10000 л. Альтернативно также можно использовать биореакторы меньшего масштаба, например, емкостью от 2 до 100 л для получения антитела или фрагмента антитела.

Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент типично присутствует в супернатанте культуры клеток-хозяев млекопитающего, типично СНО клеточной культуры. Что касается способов культивирования СНО, где белок, представляющий интерес, такой как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, секретируется в супернатанте, указанный супернатант собирают способами, известными в данной области, типично центрифугированием.

Поэтому способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента включает стадию центрифугирования и выделения супернатанта после культивирования клеток и до очистки белка. Еще в одном конкретном варианте осуществления указанное центрифугирование является непрерывным центрифугированием. Во избежание сомнений супернатант означает жидкость, находящуюся выше осажденных клеток в результате центрифугирования клеточной культуры.

Альтернативно клетки-хозяева представляют собой прокариотические клетки, предпочтительно грамотрицательных бактерий. Более предпочтительно клетки-хозяева представляют собой клетки *E.coli*. Прокариотические клетки-хозяева для экспрессии белков хорошо известны в данной области (Terpe, K., Appl. Microbiol. Biotechnol., 72, 211-222 (2006)). Клетки-хозяева являются рекомбинантными клетками, которые генетически сконструированы для продукции белка, представляющего интерес, такого как антигенсвязывающий фрагмент антитела. Рекомбинантные *E.coli* клетки-хозяева могут происходить из любого подходящего штамма *E.coli*, в том числе из MC4100, TGI, TG2, DHB4, DH5 α , DH1, BL21, K12, XL1Blue и JM109. Одним примером является *E.coli* штамм W3110 (ATCC 27,325), широко используемый штамм-хозяин для ферментации рекомбинантных белков. Фрагменты антител также можно получить путем культивирования модифицированных штаммов *E.coli*, например метаболических мутантов или протеаза-дефицитных штаммов *E.coli*.

Фрагмент антитела типично присутствуют либо в периплазме *E.coli* клетки-хозяина, либо в культуральном супернатанте клеток-хозяев в зависимости от природы белка, масштаба получения и используемого штамма *E.coli*. Способы нацеливания белков на эти компартменты хорошо известны в данной области (Makrides, S.C., Microbiol. Rev., 60, 512-538 (1996)). Примеры подходящих сигнальных последовательностей для направления белков в периплазму *E.coli* включают *E.coli* PhoA, OmpA, OmpT, LamB и OmpF сигнальные последовательности. Белки могут направляться в супернатант, полагаясь на природные секреторные пути, или путем индукции ограниченной проницаемости внешней мембраны, чтобы вызвать секрецию белка, и примерами этого являются использование *relB* лидерной последовательности, лидерной последовательности белка A, ко-экспрессии белка высвобождения бактериоцинов, митохондриально индуцируемого белка высвобождения бактериоцинов вместе с добавлением глицина к культуральной среде и ко-экспрессией *kil* гена для пермеабилзации мембран. Наиболее предпочтительно рекомбинантный белок экспрессируется в периплазме хозяина *E.coli*.

Экспрессия рекомбинантного белка в *E.coli* клетках-хозяевах также может происходить под контролем индуцибельной системы, посредством чего экспрессия рекомбинантного антитела в *E.coli* происходит под контролем индуцибельного промотора. Многие индуцибельные промоторы, подходящие для применения в *E.coli*, хорошо известны в данной области и в зависимости от используемого промотора для экспрессии рекомбинантного белка могут индуцироваться различными факторами, такими как температура или концентрация определенного вещества в питательной среде. Примеры индуцибельных промоторов включают *E.coli* *lac*, *tac* и *trc* промоторы, которые индуцируются лактозой или негидролизуемым аналогом лактозы изопропил-b-D-1-тиогаалактопиранозидом (IPTG), и *rhoA*, *trp* и *araBAD* промоторы, которые индуцируются фосфатом, триптофаном и L-арабинозой соответственно. Экспрессию можно индуцировать, например, добавлением индуктора или изменением температуры, когда индукция является зависимой от температуры. Если индукция экспрессии рекомбинантного белка достигается добавлением индуктора в культуру, индуктор можно добавлять любым подходящим способом, в зависимости от системы ферментации и индуктора, например, путем одного или нескольких добавлений или путем постепенного добавления индуктора во время подачи. Должно быть понятно, что может быть задержка между добавлением индуктора и действительной индукцией экспрессии белка, например, когда индуктором является лактоза, может быть задержка перед тем, как будет происходить индукция экспрессии белка, при этом любой изначально присутствующий источник углерода используют перед лактозой.

Культуры *E.coli* клеток-хозяев (ферментации) можно культивировать в любой среде, которая будет поддерживать рост *E.coli* и экспрессию рекомбинантного белка. Среда может быть любой химически определенной средой, такой как, например, описанные в Durany O. et al. (2004), Studies on the expression

of recombinant fuculose-1-phosphate aldolase in *Escherichia coli*, *Process Biochem.*, 39, 1677-1684.

Культивирование *E.coli* клеток-хозяев может происходить в любом подходящем контейнере, таком как встряхиваемая колба или ферментер, в зависимости от требуемого масштаба получения. Существуют различные ферментеры для крупномасштабного производства с емкостью от больше чем 1000 л до около 100000 л. Предпочтительно используют ферментеры емкостью 1000-50000 л, более предпочтительно 1000-25000, 20000, 15000, 12000 или 10000 л. Также можно использовать ферментеры меньшего масштаба с емкостью от 0,5 до 1000 л.

Ферментацию *E.coli* можно осуществить в любой подходящей системе, например, непрерывным, периодическим или периодическим способом с подпиткой в зависимости от белка и требуемых выходов. Периодический способ можно использовать с добавлениями небольшими дозами питательных веществ или индукторов, когда требуется. Альтернативно можно использовать периодический способ с подпиткой культуры и культуры, выращенные в периодическом режиме перед индукцией при максимальной удельной скорости роста, которые можно поддерживать с использованием питательных веществ, изначально присутствующих в ферментере, и одного или нескольких режимов подпитки питательной среды, используемых для контроля скорости роста, вплоть до завершения ферментации. Также можно использовать периодический способ с подпиткой перед индукцией для контроля метаболизма *E.coli* клеток-хозяев и для достижения большей плотности клеток.

Если желательно, клетки-хозяева могут быть собраны из ферментационной среды, например клетки-хозяева могут быть собраны из образца центрифугированием, фильтрованием или концентрированием. В этом случае способ типично включает стадию центрифугирования и выделения клеток до экстракции белка.

Что касается способов ферментации *E.coli*, где белок, представляющий интерес, такой как антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, присутствует в периплазматическом пространстве клетки-хозяина, необходимо выделить белок из клетки-хозяина. Выделение можно осуществить любым подходящим способом, таким как лизис клеток с использованием механической обработки или давления, обработки замораживанием-оттаиванием, при помощи осмотического шока, экстрагирующих веществ или термообработки. Такие способы экстракции для выделения белка хорошо известны в данной области. Поэтому в особом варианте осуществления способ получения включает дополнительную стадию экстракции белка перед очисткой белка.

Другие способы для получения антигенсвязывающего фрагмента человеческого антитела *in vitro* основаны на дисплейных технологиях, таких как технология фагового дисплея или рибосомного дисплея, где используют библиотеки рекомбинантных ДНК, которые получены либо, по меньшей мере частью, искусственным путем, либо из репертуара генов вариабельных (V) доменов иммуноглобулинов от доноров. Технологии фагового и рибосомного дисплея для генерации человеческих антител хорошо известны в данной области. Человеческие антитела также можно генерировать из выделенных человеческих В-клеток, которые *ex vivo* иммунизируют антигеном, представляющим интерес, и затем сливают для образования гибридом, которые затем можно скринировать на оптимальное человеческое антитело.

Фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением может иметь pH от 4,0 до 7,5, предпочтительно от 4,0 до 6,0, более предпочтительно от 4,5 до 6,0, еще более предпочтительно от 5,5 до 5,8 или наиболее предпочтительно около 5,6.

Фармацевтическая композиция содержит буферный агент для поддержания pH на постоянном уровне. Существует множество буферных агентов, используемых в области жидких фармацевтических композиций, таких как, но не ограничиваясь этим, цитрат, фосфат, лактат, гистидин, глутамат, малеат, тартрат или сукцинат. Предпочтительный вид буфера обычно выбирают из тех, которые имеют значение pKa, близкое (единица измерения pH +/-1) к предпочтительному pH для оптимальной стабильности белка, чтобы поддерживать высокую буферную емкость, и он ассоциируется с максимальной продемонстрированной стабильностью, наблюдаемой для конкретного белка, помещаемого в ряд различных видов буферов. Соответствующие pH диапазоны композиции обычно выбирают из тех, которые ассоциируются с максимальной продемонстрированной стабильностью, наблюдаемой для конкретного белка, когда его помещают в ряд композиций с изменяющимся pH.

Фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением включает в качестве буферного агента аминокислоту или смесь аминокислот, предпочтительно при концентрации от 10 до 100 mM, от 10 до 80 mM, от 10 до 60 mM, от 25 до 60 mM, предпочтительно от 30 до 50 mM, или 30 mM.

Подходящими аминокислотами являются аргинин, лизин, гистидин, метионин, орнитин, изолейцин, лейцин, аланин, глицин, глутаминовая кислота или аспарагиновая кислота. Предпочтительным является включение основной аминокислоты, т.е. аргинина, лизина и/или гистидина. Аминокислота может присутствовать в ее D- и/или L-форме, но типичной является L-форма. Аминокислота может присутствовать в виде любой подходящей соли, например гидрохлорида, такой как аргинин-HCl.

Предпочтительно аминокислота представляет собой гистидин, более предпочтительно в концентрации 30 mM.

Фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением может также включать смесь аминокислот, например смесь гистидина и пролина, гистидина, пролина и глицина, гистидина, пролина и арги-

нина, гистидина, пролина, аргинина и глицина. Предпочтительно фармацевтическая композиция согласно изобретению включает гистидин и другую аминокислоту, предпочтительно пролин, в концентрации от 10 до 300 мМ, от 50 до 280 мМ, от 100 до 280 мМ или от 180 до 250 мМ. Предпочтительно фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением содержит 30 мМ гистидина и от 180 до 250 мМ пролина.

Фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением дополнительно включает поверхностно-активное вещество.

Поверхностно-активные вещества, доступные для применения в фармацевтической композиции в соответствии с изобретением, включают, но не ограничиваются этим, неионные поверхностно-активные вещества, ионные поверхностно-активные вещества и цвиттерийонные поверхностно-активные вещества. Типичные поверхностно-активные вещества для применения с изобретением включают, но не ограничиваются этим, сложные эфиры жирных кислот и сорбитана (например, сорбитанмонокаприлат, сорбитанмонолаурат, сорбитанмонопальмитат), сорбитантриолеат, сложные эфиры глицерина и жирных кислот (например, глицеринмонокаприлат, глицеринмономиристат, глицеринмоностеарат), сложные эфиры полиглицерина и жирных кислот (например, декаглицерилмоностеарат, декаглицерилдистеарат, декаглицерилмоноолеат), сложные эфиры полиоксиэтиленсорбитана и жирных кислот (например, полиоксиэтиленсорбитанмонолаурат, полиоксиэтиленсорбитанмоноолеат, полиоксиэтиленсорбитанмоностеарат, полиоксиэтиленсорбитанмонопальмитат, полиоксиэтиленсорбитантриолеат, полиоксиэтиленсорбитантристеарат), сложные эфиры полиоксиэтиленсорбита и жирных кислот (например, полиоксиэтиленсорбиттетрастеарат, полиоксиэтиленсорбиттетраолеат), сложные эфиры полиоксиэтиленглицерина и жирных кислот (например, полиоксиэтиленглицерилмоностеарат), сложные эфиры полиэтиленгликоля и жирных кислот (например, полиэтиленгликоль дистеарат), алкиловые эфиры полиоксиэтилена (например, лауриловый эфир полиоксиэтилена), алкиловые эфиры полиоксиэтилена-полиоксипропилена (например, полиоксиэтиленполиоксипропиленгликоль, полиоксиэтилен-полиоксипропилен пропиловый эфир, полиоксиэтилен-полиоксипропилен цетиловый эфир), алкилфениловые эфиры полиоксиэтилена (например, нонилфениловый эфир полиоксиэтилена), полиоксиэтилен-гидрированное касторовое масло (например, полиоксиэтилен-касторовое масло, полиоксиэтилен-гидрированное касторовое масло), полиоксиэтилированные производные пчелинового воска (например, полиоксиэтилен-сорбит-пчелиный воск), полиоксиэтилированные производные ланолина (например, полиоксиэтиленланолин) и амиды полиоксиэтилен-жирных кислот (например, амид полиоксиэтиленстеариновой кислоты); C_{10} - C_{18} алкилсульфаты (например, цетилсульфат натрия, лаурилсульфат натрия, олеилсульфат натрия), полиоксиэтилен C_{10} - C_{18} алкиловый эфир сульфат в среднем с 2-4 молями добавленных этиленоксидных звеньев (например, полиоксиэтиленлаурилсульфат натрия) и соли C_{12} - C_{18} алкилсульфосукцинатных эфиров (например, натрий лаурилсульфосукцинатный эфир); и природные поверхностно-активные вещества, такие как лецитин, глицерофосфолипид, сфингофосфолипиды (например, сфингомиелин) и сложные эфиры сахарозы и C_{12} - C_{18} жирных кислот. Композиция может включать одно или несколько из этих поверхностно-активных веществ. Предпочтительными поверхностно-активными веществами являются сложные эфиры полиоксиэтиленсорбитана и жирных кислот, например полисорбат 20, 40, 60 или 80. Предпочтительно фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением включает полисорбат 80.

Фармацевтическая композиция по изобретению может включать от 0,01 до 10% мас./об. поверхностно-активного вещества, от 0,01% до 1,0% мас./об. поверхностно-активного вещества, от 0,01 до 0,5% мас./об. поверхностно-активного вещества или 0,03% мас./об. поверхностно-активного вещества, такого как полисорбаты. Предпочтительно фармацевтическая композиция по изобретению включает 0,03% мас./об. полисорбата 80.

Фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением включает в качестве стабилизатора (т.е. криопротектора) от 1 до 20% мас./об., или от 5 до 13% мас./об., или от 7 до 10% мас./об., или 7% сахарозы.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ получения фармацевтической композиции, включающей анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который включает получение композиции, включающей анти-FcRn антитело, например композиции, включающей от 80 до 140 мг/мл анти-FcRn антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающего вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, 30 мМ гистидина, 250 мМ пролина, 0,03% мас./об. полисорбата 80, при pH 5,6, и добавление 1-25% мас./об. сахарозы.

Предпочтительно способ включает получение композиции, включающей от 80 до 140 мг/мл анти-FcRn антитела, включающего вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, 30 мМ гистидина, 250 мМ пролина, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6, и добавление композиции, включающей 30 мМ гистидина, 0,03% мас./об. полисорбата 80, от 17,5 до 24,5% мас./об. сахарозы при pH 5,6.

Фармацевтические композиции, описанные и воплощенные в настоящем изобретении, могут быть в форме высушенной замораживанием (т.е. лиофилизированной) фармацевтической композиции.

Следовательно, способ для получения фармацевтической композиции в соответствии с изобретением

ем может дополнительно включать стадию сушки замораживанием (т.е. лиофилизации).

Процедуры для лиофилизации антител хорошо известны в данной области (John F., Carpenter and Michael J. Pikal, 1997, Pharm. Res., 14, 969-975); также в настоящее время доступны продукты моноклональных антител, такие как SYNAGIS™, REMICADE™, RAPTIVA™, SIMULECT™, XOLAIR™ и HERCEPTIN™, которые поставляются в виде лиофилизатов. Эти антитела восстанавливают до различных конечных концентраций, например SIMULECT™ восстанавливают до концентрации антитела 4 мг/мл, REMICADE™ восстанавливают до концентрации 10 мг/мл, HERCEPTIN™ - до 21 мг/мл, SYNAGIS™ и RAPTIVA™ - до 100 мг/мл и XOLAIR™ - до 125 мг/мл.

Методы лиофилизации обсуждаются более подробно в настоящей заявке в разделе "Примеры".

Настоящее изобретение, таким образом, обеспечивает лиофилизированную композицию, включающую антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, сахарозу, аминокислоту или смесь аминокислот и необязательно поверхностно-активное вещество. Предпочтительно лиофилизированная композиция включает от 10 до 40% мас./мас. сахарозы, более предпочтительно от 20 до 40% мас./мас. сахарозы.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения лиофилизированная композиция, включающая от 10 до 40% мас./мас. сахарозы, также включает анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антитело или его фрагмент включает вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8.

В другом предпочтительном варианте осуществления лиофилизированная композиция включает около 50,8% мас./мас. антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, около 35,5% мас./мас. сахарозы, около 3,0% мас./мас. гистидина, около 10,5% мас./мас. пролина и 0,2% мас./мас. полисорбата 80, где антитело или его фрагмент включает вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8.

Дополнительные эксципиенты для использования в фармацевтических композициях по изобретению включают, но не ограничиваются этим, агенты, повышающие вязкость, наполнители, солубилизирующие агенты, такие как моносахариды, например фруктоза, мальтоза, галактоза, глюкоза, D-манноза, сорбоза и т.п.; дисахариды, такие как лактоза, трегалоза, целлобиоза и т.п.; полисахариды, такие как раффиноза, мелезитоза, мальтодекстрины, декстраны, крахмалы и т.п.; и полиолы, такие как маннит, ксилит, мальтит, лактит, ксилит-сорбит (глюцитол) и т.п.; полиэтиленгликоли (например, ПЭГ100, ПЭГ300, ПЭГ600, ПЭГ1500, ПЭГ2000, ПЭГ3000, ПЭГ3350, ПЭГ4000, ПЭГ6000, ПЭГ8000 или ПЭГ20000), поливинилпирролидон, триметиламин N-оксид, триметилглицин или их комбинации.

Перед введением высушенной замораживанием (лиофилизированной) фармацевтической композиции пациенту ее необходимо восстановить при помощи растворителя. В рамках настоящего изобретения предпочтительным растворителем является водный растворитель, более предпочтительно водный растворитель представляет собой воду.

Объем растворителя, используемый для восстановления, диктуется концентрацией антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в получаемой жидкой фармацевтической композиции. Восстановление меньшим объемом растворителя, чем объем до лиофилизации, дает композицию, которая является более концентрированной, чем до лиофилизации, и наоборот.

Настоящее изобретение поэтому обеспечивает способ восстановления лиофилизированной фармацевтической композиции в соответствии с изобретением путем добавления растворителя, где растворитель предпочтительно представляет собой воду.

Восстанавливаемое отношение (объем пред-лиофилизированной фармацевтической композиции к растворителю, используемому для восстановления лиофилизированной фармацевтической композиции) может варьироваться от 0,5:1 до 1:10. В предпочтительном варианте осуществления используют отношение около 1:1, чтобы полученный объем восстановленной жидкой фармацевтической композиции был около 4,4 мл.

Предпочтительные фармацевтические композиции для лиофилизации и/или восстановленные жидкие фармацевтические композиции в соответствии с изобретением включают

А) от 1 до 200 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающего вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, от 10 до 50 мМ гистидина, от 10 до 300 мМ пролина, от 1 до 20% мас./об. сахарозы, от 0,01 до 1,0% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6;

В) от 50 до 150 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающего вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, от 20 до 40 мМ гистидина, от 50 до 280 мМ пролина, от 5 до 13% мас./об. сахарозы, от 0,01 до 0,5% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6;

С) от 80 до 140 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающего вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, 30 мМ гистидина, 250 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6;

Д) от 50 до 150 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающего вариабель-

ную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, или тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 11, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80, при pH 5,6;

Е) от 80 до 140 мг/мл, предпочтительно 100 мг/мл, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающего вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи включает CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H3 SEQ ID NO: 3, и вариабельная область легкой цепи включает CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6;

Ф) от 80 до 140 мг/мл, предпочтительно 100 мг/мл, антитела, включающего тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 10, и легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 9, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6 и по меньшей мере i), или i) и ii), или i), ii) и iii), где

- i) от 100 до 250 мМ маннита;
- ii) от 80 до 200 мМ L-аргинина HCl;
- iii) от 100 до 280 мМ глицина;

Г) от 80 до 140 мг/мл, предпочтительно 100 мг/мл, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающего вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, или тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 11, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6 и по меньшей мере i), или i) и ii), или i), ii) и iii), где

- i) от 100 до 250 мМ маннита;
- ii) от 80 до 200 мМ L-аргинина HCl;
- iii) от 100 до 280 мМ глицина;

Н) от 80 до 140 мг/мл, предпочтительно 100 мг/мл, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающего вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи включает CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H3 SEQ ID NO: 3 и вариабельная область легкой цепи включает CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6 и по меньшей мере i), или i) и ii), или i), ii) и iii), где

- i) от 100 до 250 мМ маннита;
- ii) от 80 до 200 мМ L-аргинина HCl;
- iii) от 100 до 280 мМ глицина;

И) от 80 до 140 мг/мл, предпочтительно 100 мг/мл, антитела, включающего тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 10, и легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 9, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6 и по меньшей мере i), или i) и ii), или i), ii) и iii), где

- i) от 100 до 250 мМ маннита;
- ii) от 80 до 200 мМ L-аргинина HCl;
- iii) от 100 до 280 мМ глицина.

Настоящее изобретение также обеспечивает контейнер, включающий лиофилизированную фармацевтическую композицию или восстановленную жидкую фармацевтическую композицию в соответствии с изобретением. В частности, контейнер может представлять собой флакон, включающий лиофилизированную фармацевтическую композицию, подлежащую восстановлению.

Контейнер может быть частью состоящего из частей набора, включающего один или несколько контейнеров, включающих лиофилизированные фармацевтические композиции в соответствии с изобретением, подходящие растворители для восстановления лиофилизированной фармацевтической композиции, устройства для доставки, такие как шприцы, и инструкции по применению.

Фармацевтические композиции или жидкие фармацевтические композиции в соответствии с изобретением предназначены для применения в терапии.

В предпочтительном варианте осуществления восстановленная жидкая фармацевтическая композиция для применения в терапии включает от 80 до 140 мг/мл, предпочтительно 100 мг/мл, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6, необязательно i), или i) и ii), или i), ii) и iii), где

- i) от 100 до 250 мМ маннита;
- ii) от 80 до 200 мМ L-аргинина HCl;
- iii) от 100 до 280 мМ глицина,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (в соответствующих случаях) включает

1) вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, или тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 11; или

2) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7,

и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 8;

3) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 11;

4) легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 10; или

5) легкую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 10;

6) вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи включает CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H3 SEQ ID NO: 3 и вариабельная область легкой цепи включает CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

Фармацевтическая композиция или жидкие фармацевтические композиции в соответствии с изобретением также предназначены для применения в лечении воспалительных или аутоиммунных заболеваний, выбранных из тяжелой миастении, обыкновенной пузырчатки, нейромиеелита зрительного нерва, синдрома Гийена-Барре, волчанки и тромботической тромбоцитопенической пурпуры, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ITP), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (CIDP) и их комбинаций.

В другом предпочтительном варианте осуществления восстановленная жидкая фармацевтическая композиция для применения в лечении воспалительных или аутоиммунных заболеваний, выбранных из тяжелой миастении, обыкновенной пузырчатки, нейромиеелита зрительного нерва, синдрома Гийена-Барре, волчанки и тромботической тромбоцитопенической пурпуры, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ITP), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (CIDP) и их комбинаций включает от 80 до 140 мг/мл, предпочтительно 100 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6, необязательно i), или i) и ii), или i), ii) и iii), где

i) от 100 до 250 мМ маннита;

ii) от 80 до 200 мМ L-аргинина HCl;

iii) от 100 до 280 мМ глицина,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (в соответствующих случаях) включает

1) вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, или тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 11; или

2) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 8;

3) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 11;

4) легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 10; или

5) легкую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 10;

6) вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи включает CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H3 SEQ ID NO: 3 и вариабельная область легкой цепи включает CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

Изобретение также обеспечивает способ для лечения воспалительного или аутоиммунного заболевания у млекопитающего субъекта, включающий введение фармацевтической композиции или жидких фармацевтических композиций в соответствии с изобретением, где воспалительное или аутоиммунное заболевание выбрано из тяжелой миастении, обыкновенной пузырчатки, нейромиеелита зрительного нерва, синдрома Гийена-Барре, волчанки и тромботической тромбоцитопенической пурпуры, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ITP), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (CIDP) и их комбинаций.

Субъект, являющийся млекопитающим, может быть выбран из группы, включающей грызунов, кошек, собак, лошадей, коров, овец, отличных от человека приматов и человека. Предпочтительно млекопитающее представляет собой человека.

Еще в одном предпочтительном варианте осуществления способ для лечения воспалительного или аутоиммунного заболевания у млекопитающего субъекта включает введение восстановленной жидкой фармацевтической композиции, включающей от 80 до 140 мг/мл, предпочтительно 100 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6, необязательно i), или i) и ii), или i), ii) и iii), где

- i) от 100 до 250 мМ маннита;
- ii) от 80 до 200 мМ L-аргинина HCl;
- iii) от 100 до 280 мМ глицина,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (в соответствующих случаях) включает

1) вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, или тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 11; или

2) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 8;

3) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 11;

4) легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 10; или

5) легкую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 10;

6) вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи включает CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H3 SEQ ID NO: 3 и вариабельная область легкой цепи включает CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6 и где воспалительное или аутоиммунное заболевание выбрано из тяжелой миастении, обыкновенной пузырчатки, нейромиеелита зрительного нерва, синдрома Гийена-Барре, волчанки и тромботической тромбоцитопенической пурпуры, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ITP), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (CIDP) и их комбинаций.

Кроме того, фармацевтическую композицию или жидкие фармацевтические композиции в соответствии с изобретением можно использовать для получения лекарственного средства для лечения воспалительных или аутоиммунных заболеваний, выбранных из тяжелой миастении, обыкновенной пузырчатки, нейромиеелита зрительного нерва, синдрома Гийена-Барре, волчанки и тромботической тромбоцитопенической пурпуры, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ITP), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (CIDP) и их комбинаций.

В другом предпочтительном варианте осуществления восстановления жидкую фармацевтическую композицию можно использовать для получения лекарственного средства для лечения воспалительных или аутоиммунных заболеваний, выбранных из тяжелой миастении, обыкновенной пузырчатки, нейромиеелита зрительного нерва, синдрома Гийена-Барре, волчанки и тромботической тромбоцитопенической пурпуры, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ITP), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (CIDP) и их комбинаций, при этом композиция включает от 80 до 140 мг/мл, предпочтительно 100 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6, необязательно i), или i) и ii), или i), ii) и iii), где

- i) от 100 до 250 мМ маннита;
- ii) от 80 до 200 мМ L-аргинина HCl;
- iii) от 100 до 280 мМ глицина,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (в соответствующих случаях) включает

1) вариабельную область легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 8, или тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 11; или

2) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 8;

3) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 7, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 11;

4) легкую цепь, включающую SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, включающую SEQ ID NO: 10; или

5) легкую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90%

идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 9, и тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80% идентичности или сходства, предпочтительно 90% идентичности или сходства, с последовательностью, определенной в SEQ ID NO: 10;

б) вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи включает CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H3 SEQ ID NO: 3 и вариабельная область легкой цепи включает CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

Восстановленные жидкие фармацевтические композиции в соответствии с изобретением вводят в терапевтически эффективном количестве. Используемый в настоящей заявке термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству терапевтического средства (т.е. антитела), необходимому для лечения, облегчения тяжести или предотвращения конкретного заболевания, расстройства или состояния, или для проявления обнаруживаемого терапевтического, фармакологического или профилактического эффекта. Для любого антитела или его антигенсвязывающих фрагментов терапевтически эффективное количество может быть первоначально установлено либо в анализах клеточной культуры, либо на животных моделях, обычно грызунов, кроликов, собак, свиней или приматов. Животную модель также можно использовать для определения соответствующего диапазона концентраций и пути введения. Такую информацию затем можно использовать для определения полезных доз и путей введения для человека.

Точное терапевтически эффективное количество для субъекта-человека будет зависеть от тяжести заболевания, общего состояния здоровья субъекта, возраста, массы тела и пола субъекта, режима питания, времени и частоты введения, используемого в комбинации лекарственного средства(средств), чувствительности реакции и резистентности/ответа на терапию. Это количество можно определить путем рутинного экспериментирования, и оно зависит от суждения лечащего врача. Как правило, терапевтически эффективное количество антитела будет составлять от 0,01 до 500 мг/кг, например от 0,1 до 200 мг/кг, например 100 мг/кг.

Для лечения вышеуказанных заболеваний и/или расстройств подходящая доза будет варьироваться в зависимости от, например, конкретного используемого антитела, субъекта, принимающего лечение, способа введения, природы и тяжести состояния, которое лечат. В конкретном варианте осуществления восстановленную жидкую фармацевтическую композицию по изобретению вводят внутривенным или подкожным путем. При введении через внутривенную инъекцию композицию можно вводить в виде болюсной инъекции или в виде непрерывной инфузии. Восстановленную жидкую фармацевтическую композицию в соответствии с любым из вариантов осуществления изобретения также можно вводить путем внутримышечной инъекцией. Восстановленную жидкую фармацевтическую композицию можно вводить с использованием шприца, инъекционного устройства, такого как шприц-тюбик, безыгольного устройства, имплантата и пластыря.

В одном конкретном варианте осуществления настоящего изобретения достижение дозы 400 мг обеспечивают путем введения 4 мл 1:1 восстановленной жидкой фармацевтической композиции, содержащей 100 мг/мл анти-FcRn-антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Жидкую фармацевтическую композицию по изобретению подходящим образом вводят пациенту разово или с использованием ряда введений, и ее можно вводить пациенту в любое время после постановки диагноза; ее можно вводить как единственное лечение или в комбинации с другими лекарственными средствами или терапиями, полезными для лечения состояний, описанных выше.

Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может быть единственным активным ингредиентом в жидкой фармацевтической композиции. Альтернативно антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить в комбинации, например, одновременно, последовательно или отдельно с одним или несколькими другими терапевтически активными ингредиентами. Активный ингредиент, как этот термин используется в настоящей заявке, относится к ингредиенту с фармакологическим эффектом, таким как терапевтический эффект, при соответствующей дозе. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент в жидкой фармацевтической композиции может присутствовать вместе с другими активными ингредиентами, включая другие антитела или ингредиенты, отличные от антител. Когда антитело в жидкой фармацевтической композиции в соответствии с изобретением представляет собой антитело против FcRn, субъекту можно вводить дополнительный активный ингредиент для лечения воспалительного или аутоиммунного заболевания. В одном варианте осуществления субъекту вводят одновременно или последовательно (до и/или после) другие ингредиенты, которые представляют собой антитела или являются отличными от антител, такие как стероиды или другие молекулы лекарственных средств, в частности молекулы лекарственных средств, период полувыведения которых не зависит от связывания FcRn.

Далее изобретение будет более подробно описано при помощи примеров со ссылкой на варианты осуществления, проиллюстрированные на прилагаемых чертежах.

Примеры

Аббревиатуры.

DLS (динамическое рассеяние света);

Arg(L-аргинин);
 iCE (капиллярный электрофорез с визуализацией);
 Mai (мальтит);
 Pro (L-пролин);
 PS80 (полисорбат 80);
 Raf (раффиноза);
 SE-UPLC (эксклюзионная ультраэффективная жидкостная хроматография);
 Sor (сорбит);
 Sue (сахароза);
 Gly (глицин);
 Man (маннит);
 Met (L-метионин);
 Tre (трегалоза).
 Материалы.

D-(-)-сорбит (VWR GPR Rectopur™);
 полисорбат 80 (Tween 80™, Merck™);

140 мг/мл анти-FcRn антитела, описанного в WO 2014019727 (SEQ ID NO: 9 и 10), в 30 мМ гистидина, 250 мМ пролина, 0,03% PS80, pH 5,6 (UCB Celltech ltd);

маннит (Roquette™);

все следующие от (Sigma™): D-(+)-раффиноза пентагидрат, L-аргинин моногидрохлорид, L-гистидин, L-пролин, мальтит, глицин, сахароза, L-метионин и трегалоза дегидрат.

Пример 1.

Получение лиофилизированной композиции.

Композиции, подлежащие лиофилизации, включающие 100 и 80 мг/мл анти-FcRn антитела, описанного в WO 2014019727 (SEQ ID NO: 9 и 10), получали путем добавления в композицию, включающую 140 мг/мл указанного антитела в 30 мМ гистидина, pH 5,6, 250 мМ пролина, 0,03% PS80 (эталонная композиция), растворов A-I, как указано в табл. 2 ниже.

Таблица 2

Образец	Конц. (мг/мл)	Композиция	Конц. (мг/мл)	Композиция	
		Исходная			
		Добавление (100:40)		Конечная	
A	N/A	30 мМ гистидина pH 5,6, 0,03% PS80, 17,5% сахарозы	100	30 мМ гистидина pH 5,6, 180 мМ пролина, 0,03% PS80, 5% сахарозы	100-Suc5
B		30 мМ гистидина pH 5,6, 0,03% PS80, 24,5% сахарозы		30 мМ гистидина pH 5,6, 180 мМ пролина, 0,03% PS80, 7% сахарозы	100-Suc7
C		30 мМ гистидина pH 5,6, 0,03% PS80, 14% сорбита		30 мМ гистидина pH 5,6, 180 мМ пролина, 0,03% PS80, 4% сорбита	100-Sor4
D		30 мМ гистидина pH 5,6, 0,03% PS80, 24,5% мальтита		30 мМ гистидина pH 5,6, 180 мМ пролина, 0,03% PS80, 7% мальтита	100-Mal7
E		30 мМ гистидина pH 5,6, 0,03% PS80, 35% раффинозы		30 мМ гистидина pH 5,6, 180 мМ пролина, 0,03% PS80, 10% раффинозы	100-Raf10
F		30 мМ гистидина pH 5,6, 0,03% PS80, 630 мМ L- аргинина		30 мМ гистидина pH 5,6, 180 мМ пролина, 0,03% PS80, 180 мМ L- аргинина	100-Arg180

G		30 мМ гистидина pH 5,6, 0,03% PS80, 250 мМ пролина		30 мМ гистидина pH 5,6, 250 мМ пролина, 0,03% PS80	100- Pro250
	Добавление (80:60)			Конечная	
H	N/A	30 мМ гистидина pH 5,6, 0,03% PS80, 16,5% сахарозы	80	30 мМ гистидина pH 5,6, 180 мМ пролина, 0,03% PS80, 7% сахарозы	80-Suc7
I		30 мМ гистидина pH 5,6, 0,03% PS80, 21% сахарозы		30 мМ гистидина pH 5,6, 180 мМ пролина, 0,03% PS80, 9% сахарозы	80-Suc9

Флаконы емкостью примерно 3-мл (Schott Topline Fiolax™ прозрачные) заполняли 1 мл композиции, подлежащей лиофилизации. Лيوфилизацию осуществляли с использованием лиофилизатора Martin-Christ Epsilon 2-6D™. Цикл лиофилизации состоял из замораживания при -40°C, нормализации при -10°C, сублимации при -20°C и вторичной сушки при 25°C (табл. 3). По окончании цикла лиофилизации флаконы заполняли приблизительно 400 мбар N₂ и закрывали пробками с одним отверстием (Westar™, West Pharmaceuticals™). Лيوфилизаты хранили при 2-8°C до анализа или начала испытаний стабильности.

Таблица 3

стадия	t (час)	линейное изменение (°C/мин)	удерживание (мин)	T (°C)	p (мбар)
1	0,00		0	5	1000
2	1,50	0,50		-40	1000
3	2,50		60	-40	1000
4	3,50	0,50		-10	1000
5	5,50		120	-10	1000
6	6,50	0,50		-40	1000
7	8,50		120	-40	1000
8	9,00		30	-40	0,28
9	9,67	0,50		-20	0,28
10	33,67		1440	-20	0,28
11	35,17	0,50		25	0,28
12	41,17		360	25	0,28
13	41,50	1,00		5	0,28
14	50,00		0	5	0,28

Испытания стабильности, осуществляемые в этих экспериментах, состояли из ускоренного испытания стабильности в течение 3 и 6 месяцев при 30°C и испытания стабильности в стрессовых условиях в течение 4 недель и 3 месяцев при 40°C).

1. Восстановление.

Леофилизаты восстанавливали с использованием 0,9 мл Milli-Q воды до концентрации 80 или 100 мг/мл соответственно. Время для полного растворения брикета до получения прозрачного раствора (с возможным небольшим количеством пены по краям сверху) регистрировали. Внешний вид леофилизата и восстановленного раствора оценивали визуально.

Время восстановления показано на фиг. 1. Время восстановления показано на y-оси в минутах для каждой из композиций, указанных в табл. 2. Измерения осуществляли на композиции, восстановленной сразу после лиофилизации (без хранения; t₀); после восстановления леофилизированной фармацевтической композиции после хранения в течение 3 месяцев при 30°C (t_{3M}, 30°C); после 6 месяцев при 30°C (t_{6M}, 30°C); после 4 недель при 40°C (t_{4N}, 40°C); и после 3 месяцев при 40°C (t_{3M}, 40°C).

Время восстановления было в пределах 10 мин для композиций, содержащих сахарозу, и для композиции с 180 мМ L-аргинина (фиг. 1). Композицию, включающую 80 мг/мл анти-FcRn антитела, вос-

становились существенно быстрее, чем композиции, включающие 100 мг/мл. Композиции, включающие 100 мг/мл анти-FcRn антитела в 7% сахарозы или в 180 мМ L-аргинина, показали приемлемое время восстановления меньше чем 10 мин во всех точках времени испытаний стабильности.

Агрегация.

Концентрацию анти-FcRn антитела определяли методом УФ-поглощения при 280 нм в неразбавленном состоянии с использованием SoloVPE™ (CE Technologies™) удлинения, соединенного с УФ-спектрофотометром Cary50™ (Varian™), или после разбавления в воде до 1 мг/мл с использованием планшет-ридера Spectramax™ M5 (Molecular Devices™), $\epsilon=1,34 \text{ мл} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Количество агрегированного белка определяли при помощи эксклюзионной UPLC (SE-UPLC) с использованием двух последовательно соединенных колонок Acquity™ BEH200 SEC (Waters) 1,7 мкм, 4,6×150 мм и подвижного буфера, включающего 0,1М Na-фосфата, 0,3 М NaCl, pH 7,0 (0,3 мл/мин). Детекцию и количественное определение осуществляли при помощи анализа флуоресценции (возб. 280 нм, эм. 345 нм).

Агрегацию белка также оценивали методом динамического рассеяния света (DLS) с использованием DynaPro Планшет-ридера™ (Wyatt™). Аликвоты образцов, разведенные до 10 мг/мл в 30 мМ гистидина pH 5,6, измеряли (10 выборок по 5 с). Данные анализировали с использованием Dynamics™ 7.1.4 регуляризации, подходящей для мультимодального распределения частиц (Wyatt™).

Данные показаны на фиг. 2 как суммарный процент агрегатов, определенный при помощи SE UPLC, для каждой композиции. Эталонную композицию (140 мг/мл анти-FcRn антитела в 30 мМ гистидина, pH 5,6, 250 мМ пролина, 0,03% PS80; нелиофилизированная) также исследовали (указана как Ref на фиг. 2). Измерения осуществляли на композиции, восстановленной сразу после лиофилизации (без хранения; t₀); после восстановления лиофилизированных фармацевтических композиций после хранения в течение 3 месяцев при 30°C (t_{3M}, 30°C); после 6 месяцев при 30°C (t_{6M}, 30°C); после 4 недель при 40°C (t_{4N}, 40°C); и после 3 месяцев при 40°C (t_{3M}, 40°C).

За исключением композиции с пролином (100-Pro250) все композиции показали повышенную стабильность в отношении агрегации по сравнению с эталонной композицией (фиг. 2). В частности, композиции, содержащие ≥7% сахарозы, показали хорошую стабильность в отношении агрегации, что касается как абсолютного образования агрегатов в каждом испытании стабильности, так и скорости образования агрегатов в испытаниях, осуществляемых при 30 и 40°C. Композиция, включающая 100 мг/мл анти-FcRn антитела в 30 мМ гистидина pH 5,6, 180 мМ пролина, 7% сахарозы, 0,03% PS80, показала увеличение агрегатов только 0,2%/месяц при 30°C и 0,4%/месяц при 40°C (табл. 4).

Таблица 4

	Агр. (% площади)					Скорость агр. (%площади/месяц)	
	t ₀	t _{3M30°C}	t _{6M30°C}	t _{4N40°C}	t _{3M40°C}	30°C	40°C
Ref	3,7	7,0	7,6	8,0	13,5	0,9	3,8
100-Suc5	3,6	4,6	4,8	4,6	5,4	0,3	0,8
100-Suc7	3,6	4,3	4,4	4,2	4,8	0,2	0,5
100-Sor4	3,6	4,9	5,4	5,3	6,9	0,4	1,4
100-Mal7	3,6	4,2	4,2	4,1	4,7	0,1	0,5
100-Raf10	3,6	4,5	4,7	4,5	5,2	0,2	0,7
100-Arg180	3,5	4,6	4,9	4,6	5,6	0,3	0,9
100-Pro250	3,9	7,1	8,3	7,4	11,1	1,0	3,1
80-Suc7	3,5	4,0	4,0	3,9	4,3	0,1	0,3
80-Suc9	3,5	3,8	3,7	3,8	4,1	0,1	0,2

Мальтит также показал приемлемое образование агрегатов, сопоставимое с наблюдаемым при ≥7% сахарозы. Хотя аргинин и мальтит показали достаточно хорошие результаты, что касается времени восстановления и образования агрегатов соответственно, они не обеспечивали приемлемые результаты в обоих испытаниях в отличие от ≥7% сахарозы, которая обеспечивала короткое время восстановления, низкое образование агрегатов и скорость образования.

Агрегаты, которые не определялись методом SE UPLC, исследовали при помощи DLS. Процент агрегатов, определенный при помощи DSL с использованием процента интенсивности распределения по размерам, показан для каждой из лиофилизированных композиций, до лиофилизации и для композиций, восстановленных сразу после лиофилизации (без хранения; t₀); после восстановления лиофилизированных фармацевтических композиций после хранения в течение 3 месяцев при 30°C (t_{3M}, 30°C); после 6 месяцев при 30°C (t_{6M}, 30°C); после 4 недель при 40°C (t_{4N}, 40°C); и после 3 месяцев при 40°C (t_{3M},

40°C).

Эталонную композицию (140 мг/мл анти-FcRn антитела в 30 мМ гистидина, pH 5,6, 250 мМ пролина, 0,03% PS80; нелиофилизированная) также исследовали. Ни эталонная (Ref), ни лиофилизированные композиции не показали никакого существенного количества HMW агрегатов. Никакого существенного изменения в больших или HMW агрегатах, влияющего на стабильность, не наблюдали при использовании DLS (фиг. 3), поскольку измеренные отклонения интенсивности не являются существенными и зависят от процедуры измерения.

Варианты, отличающиеся зарядами.

Варианты, отличающиеся зарядами, определяли методом капиллярного электрофореза с визуализацией (iCEwith iCE3 (Protein Simple™). Измерения осуществляли для композиций, восстановленных сразу после лиофилизации (без хранения; t0); после восстановления лиофилизированных фармацевтических композиций после хранения в течение 3 месяцев при 30°C (t3M, 30°C); после 6 месяцев при 30°C (t6M, 30°C); после 4 недель при 40°C (t4N, 40°C); и после 3 месяцев при 40°C (t3M, 40°C).

Увеличение кислотных компонентов (фиг. 4A) наблюдали для эталонной композиции (140 мг/мл анти-FcRn антитела в 30 мМ гистидина, pH 5,6, 250 мМ пролина, 0,03% PS80; нелиофилизированная). Композиция, содержащая 250 мМ пролина, показала уменьшение кислотных компонентов, но она также показала существенное увеличение основных компонентов (фиг. 4B). Композиция, включающая 4% сорбита, также показала заметное увеличение основных компонентов. Остальные лиофилизированные композиции показали только незначительное увеличение основных компонентов и никакого существенного изменения кислотных компонентов (фиг. 4A и 4B). Композиции, включающие $\geq 7\%$ сахарозы, не показали каких-либо существенных изменений вариантов зарядов.

Вязкость.

Вязкость восстановленного продукта измеряли при помощи ViscoPro2000™ вискозиметра (Cambridge Viscosity). Измерения осуществляли для композиций, восстановленных сразу после лиофилизации (без хранения) при 22 $\pm$ 1°C.

Вязкость повышалась с повышением концентрации сахара/сахарного спирта или с повышением молекулярной массы сахара/сахарного спирта (фиг. 5). Вязкость для композиции, включающей 80 и 100 мг/мл, в содержащей сахарозу лиофилизированной композиции была приемлемой в обоих случаях. Композиция, включающая 100 мг/мл анти-FcRn антитела в комбинации с 180 мМ L-аргинина, показала также приемлемую вязкость. Аргинин является общепризнанным эксципиентом, который обычно добавляют к фармацевтическим композициям для снижения вязкости. Его эффект сопоставим с композицией, включающей сахарозу.

Осмоляльность.

Осмоляльность восстановленных композиций измеряли при помощи парового осмометра Varpro™ 5520 (Wescor™). Измерения осуществляли для композиций, восстановленных сразу после лиофилизации (без хранения).

Большинство композиций показали осмоляльность около 500 мОсм/кг (фиг. 6). Композиция, включающая 100 мг/мл анти-FcRn антитела в композиции с 180 мМ L-аргинина, показала наивысшую осмоляльность (570 мОсм/кг), тогда как композиция, включающая 100 мг/мл анти-FcRn антитела в композиции с 250 мМ пролина, показала самую низкую осмоляльность (330 мОсм/кг). Композиция, включающая сахарозу, показал приемлемую осмоляльность.

Пример 2.

Композиции, подлежащие лиофилизации (табл. 5), за исключением эталонной композиции, получали из 60 мг/мл анти-FcRn антитела в 30 мМ гистидина, 250 мМ сорбита, pH 5,6, путем буферного обмена с использованием Amicon™ Ultra-15 30K (Millipore™) фильтрующей центрифуги/устройств для концентрирования для объемов до 15 мл, с по меньшей мере 4 циклами разбавления/концентрирования с использованием в целом диаобъема по меньшей мере в 7 раз больше объема исходного образца, для получения конечных композиций в соответствии с табл. 5 при pH 5,6. Полисорбат 20 (PS20) добавляли после буферного обмена из отфильтрованного 3% PS20 исходного раствора до конечной концентрации 0,03%. Композиция В примера 1 (100 мг/мл анти-FcRn антитела, 7% сахарозы, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина и 0,03% PS80, pH 5,6) была выбрана в качестве эталонной композиции для экспериментов примера 2.

Флаконы (3 мл; Topline Fiolac прозрачные, Schott™) заполняли 1 мл композиции, включающей 100 или 140 мг/мл анти-FcRn антитела (звездочкой (*) указаны композиции, испытанные при обеих концентрациях 100 и 140 мг/мл) (табл. 5). Лيوфилизацию осуществляли как в примере 1.

Таблица 5

Композиция										
		% масс /об	мМ		% масс /об	мМ		% масс /об		мМ
Эталонная	Сахароза	7	204	L-пролин		180	PS80	0,03	гистидин	30
Suc7		7	204		N/A	N/A	PS20	0,03	гистидин	30
Suc10*		10	292		N/A	N/A				
Suc13		13	380		N/A	N/A				
Suc5Man4		5	146		N/A	N/A				
Suc6Man3*		6	175	Маннит	4	220				
Suc7Man2		7	204		3	165				
					2	110				
Suc5Arg4		5	146	L-аргинин HCl	4	190				
Suc6Arg3*		6	175		3	142				
Suc7Arg2		7	204		2	95				
Suc5Gly2		5	146	Глицин	2	266				
Suc6Gly1, 5*		6	175		1,5	200				
Suc7Gly1		7	204		1	133				
Suc5Met3		5	146	L-метионин	3	201				
Suc6Met2, 25*		6	175		2,25	151				
Suc7Met1, 5		7	204		1,5	100				
Tre10*		10	264		N/A	N/A				

Восстановление.

Восстановление осуществляли как в примере 1. Измерения осуществляли для композиций, восстановленных сразу после лиофилизации (без хранения; t0); после восстановления лиофилизированных фармацевтических композиций после хранения в течение 3 месяцев при 30°C (t3M, 30°C); после 6 месяцев при 30°C (t6M, 30°C); после 4 недель при 40°C (t4H, 40°C); и после 3 месяцев при 40°C (t3M, 40°C). Относительно быстрое восстановление достигалось для композиций с сахарозой, сахарозой-глицином и сахарозой-аргинином как при 100 мг/мл, так и при 140 мг/мл анти-FcRn антитела (фиг. 7А, 7В). Для композиций сахароза-маннит сравнительно быстрое восстановление не достигалось, тогда как для композиций с метионином и композиции с трегалозой требовалось длительное время для восстановления (см. разницу значений по y-оси на фиг. 7А). Разница между композициями с 10% сахарозы и 10% трегалозы удивительна и предполагает специфическое взаимодействие между сахарозой и анти-FcRn антителом, способствующее восстановлению. Негативное влияние метионина на восстановление могло быть из-за изменения структуры лиофилизированного брикета, но также из-за молекулярных изменений анти-FcRn антитела (более явных в анализе агрегации, описанном ниже).

Агрегация.

Агрегацию исследовали в соответствии со способом примера 1. Измерения осуществляли на композициях до лиофилизации, на композициях, восстановленных сразу после лиофилизации (без хранения; t0); после восстановления лиофилизированных фармацевтических композиций после хранения в течение

3 месяцев при 30°C (t3M, 30°C); после 6 месяцев при 30°C (t6M, 30°C); после 4 недель при 40°C (t4H, 40°C); и после 3 месяцев при 40°C (t3M, 40°C). Все композиции за исключением метионинсодержащей композиции при обеих концентрациях (100 мг/мл и 140 мг/мл) анти-FcRn антитела показали хорошую стабильность в отношении агрегации (фиг. 8А и 8В). Композиции, показывающие наивысшую стабильность в отношении агрегации, включали композиции с 10 и 13% сахарозы, композиции с 6% сахарозы-3% маннита и 7% сахарозы-2% маннита, все аргининсодержащие композиции, а также эталонную композицию (содержащую 7% сахарозы и пролин). Уровни агрегации для композиции, содержащей 140 мг/мл анти-FcRn антитела, были такими же, как для композиции, содержащей 100 мг/мл. Метионинсодержащие композиции показали высокую степень образования агрегатов при обеих концентрациях анти-FcRn антитела.

Также исследовали агрегаты с высокой молекулярной массой (HMW). Процент агрегатов, определенный при помощи DSL с использованием процента массового распределения частиц по размерам, показан для каждой из лиофилизированных композиций до лиофилизации и для композиций, восстановленных сразу после лиофилизации (без хранения; t0); после восстановления лиофилизированных фармацевтических композиций после хранения в течение 3 месяцев при 30°C (t3M, 30°C); после 6 месяцев при 30°C (t6M, 30°C); после 4 недель при 40°C (t4H, 40°C); и после 3 месяцев при 40°C (t3M, 40°C). Результаты показаны на фиг. 9А и 9В. За исключением метионинсодержащих композиций никакого существенного увеличения высокомолекулярных (HMW) агрегатов, как измерено при помощи DLS, не наблюдали. Увеличение HMW агрегатов для метионинсодержащих композиций находится в явном соответствии с SE-UPLC данными. Агрегация по всей видимости индуцируется тепловым стрессом, а не лиофилизацией.

Варианты, отличающиеся зарядами.

Анализ вариантов зарядов осуществляли как в примере 1. Измерения осуществляли на фармацевтических композициях до лиофилизации, на композициях, восстановленных сразу после лиофилизации (без хранения; t0); после восстановления лиофилизированных фармацевтических композиций после хранения в течение 3 месяцев при 30°C (t3M, 30°C); после 6 месяцев при 30°C (t6M, 30°C); после 4 недель при 40°C (t4H, 40°C); и после 3 месяцев при 40°C (t3M, 40°C). Что касается композиций, включающих 100 мг/мл анти-FcRn антитела, уменьшение кислотных компонентов и увеличение основных компонентов наблюдали для метионинсодержащих композиций после хранения при 30 и 40°C (фиг. 10А и 10В). Подобное поведение было подтверждено для композиций, включающих 140 мг/мл анти-FcRn антитела и метионин (фиг. 11А и 11В). Это предполагает термически-индуцированные химические изменения анти-FcRn антитела из-за присутствия метионина, что также может быть причиной агрегационного поведения анти-FcRn антитела. Для всех других композиций никаких существенных изменений вариантов зарядов не наблюдали.

Вязкость.

Вязкость восстановленного продукта измеряли при помощи вискозиметра ViscoPro2000™ (Cambridge Viscosity™). Измерения осуществляли на композиции, восстановленной сразу после лиофилизации (без хранения). Вязкость для аргининсодержащих композиций была очень низкой (<6 сП), даже при 140 мг/мл (фиг. 12). Для всех других композиций вязкость была выше чем >8 сП.

Осмоляльность.

Осмоляльность восстановленных композиций измеряли при помощи парового осмометра Vapro™ 5520 (Wescor™). Измерения осуществляли на композиции, восстановленной сразу после лиофилизации (без хранения). Все композиции с хорошей стабильностью и характеристиками восстановления, такие как композиции, включающие ≥7% сахарозы, показали приемлемую осмоляльность. Стоит отметить то, что метионинсодержащие композиции показали очень низкую осмоляльность.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения воспалительного или аутоиммунного заболевания, включающая

а) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариabельную область легкой цепи, определенную в SEQ ID NO: 7, и вариabельную область тяжелой цепи, определенную в SEQ ID NO: 8, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с человеческим FcRn и присутствует в концентрации от 80 до 200 мг/мл;

б) от 7 до 13% мас./об. сахарозы;

с) смесь аминокислот, содержащую гистидин и пролин;

д) поверхностно-активное вещество; и

е) имеющая pH от 4,0 до 7,5.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент присутствует в концентрации от 80 до 150 мг/мл, более предпочтительно от 80 до 140 мг/мл.

3. Фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, где композиция включает от 7 до 10% мас./об. сахарозы, более предпочтительно 7% мас./об. сахарозы.

4. Фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, где композиция включает от 0,01 до 1,0% мас./об., предпочтительно от 0,01 до 0,5% мас./об., поверхностно-активного вещества.

5. Фармацевтическая композиция по п.4, где поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80.

6. Фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, где антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело.

7. Фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, где композиция включает от 80 до 200 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, от 10 до 50 мМ гистидина, от 10 до 300 мМ пролина, от 7 до 13% мас./об. сахарозы, от 0,01 до 1,0% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6;

предпочтительно композиция включает от 80 до 150 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, от 20 до 40 мМ гистидина, от 50 до 280 мМ пролина, от 7 до 10% мас./об. сахарозы, от 0,01 до 0,5% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6;

более предпочтительно композиция включает от 80 до 140 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6; и

еще более предпочтительно композиция включает 100 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, 30 мМ гистидина, 180 мМ пролина, 7% мас./об. сахарозы, 0,03% мас./об. полисорбата 80 при pH 5,6.

8. Фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, где композиция дополнительно включает маннит, и/или аргинин, и/или глицин.

9. Лиофилизированная композиция, включающая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, сахарозу, смесь аминокислот, содержащую гистидин и пролин, и поверхностно-активное вещество, где композиция содержит от 20 до 40% мас./мас. сахарозы, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с человеческим FcRn, содержит вариабельную область легкой цепи, определенную в SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, определенную в SEQ ID NO: 8, и имеет концентрацию от 80 до 200 мг/мл до лиофилизации.

10. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-8 или лиофилизированной композиции по п.9 для лечения воспалительных или аутоиммунных заболеваний, выбранных из тяжелой миастении, обыкновенной пузырчатки, нейромиеелита зрительного нерва, синдрома Гийена-Барре, волчанки и тромботической тромбоцитопенической пурпуры, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (CIDP) и их комбинаций.

11. Способ получения фармацевтической композиции по п.9, где способ включает следующие стадии:

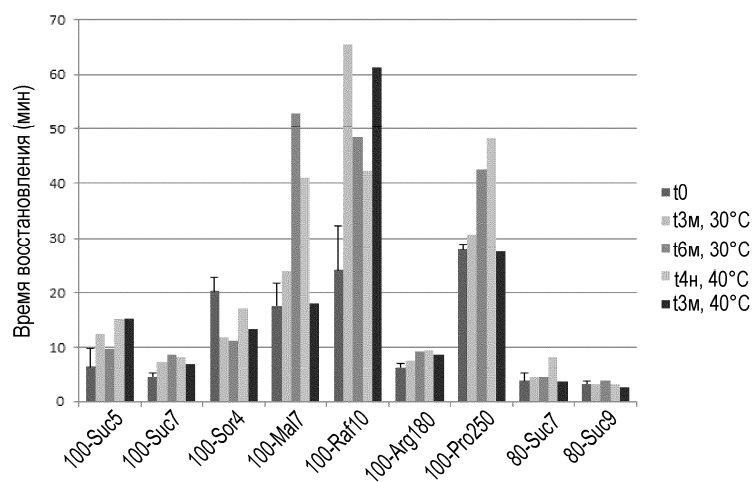
(i) получение композиции, имеющей pH от 4,0 до 7,5, включающей антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с человеческим FcRn, содержит вариабельную область легкой цепи, определенную в SEQ ID NO: 7, и вариабельную область тяжелой цепи, определенную в SEQ ID NO: 8, и присутствует в концентрации от 80 до 200 мг/мл, смесь аминокислот, и поверхностно-активное вещество, где смесь аминокислот содержит гистидин и пролин;

(ii) добавление 7-13% мас./об. сахарозы; и

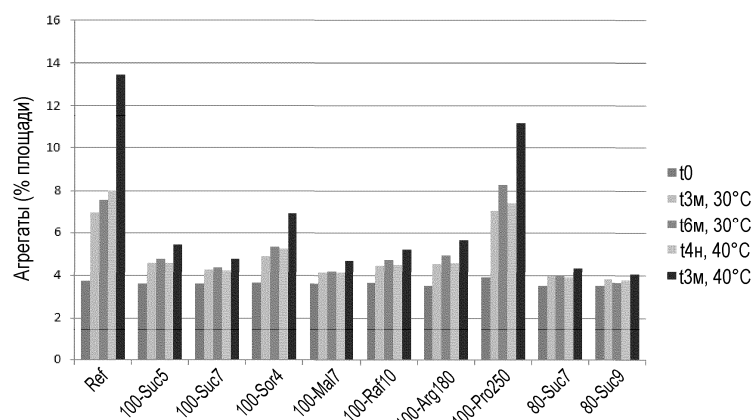
(iii) лиофилизация фармацевтической композиции, полученной на стадии (ii).

12. Способ восстановления фармацевтической композиции по п.9 путем добавления растворителя.

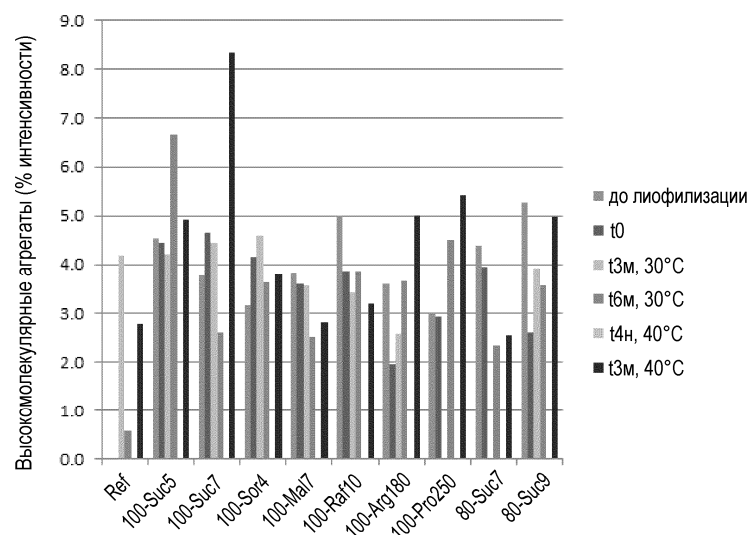
13. Способ по п.12, где растворитель представляет собой воду.



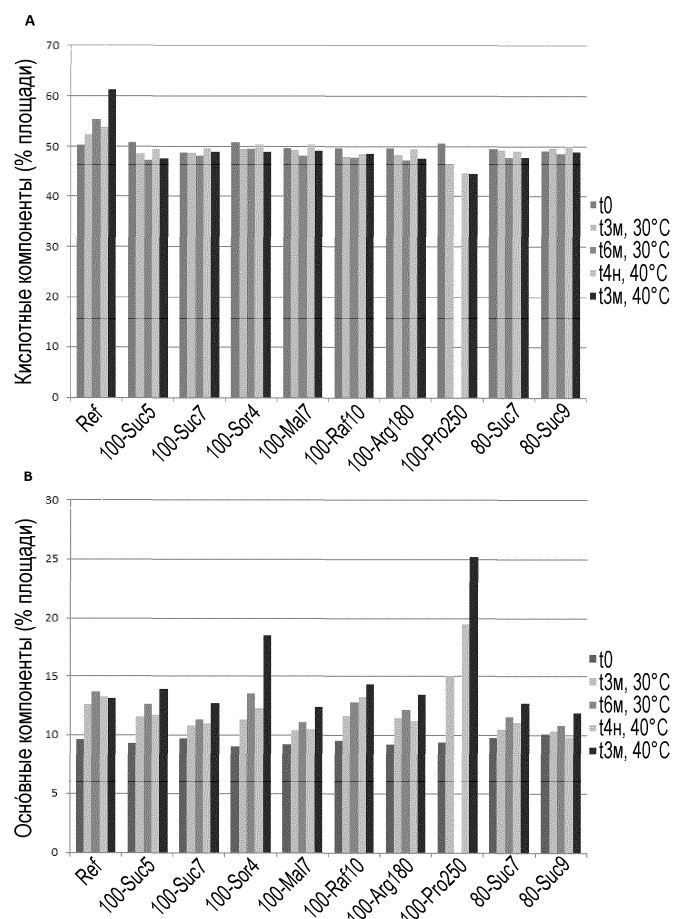
Фиг. 1



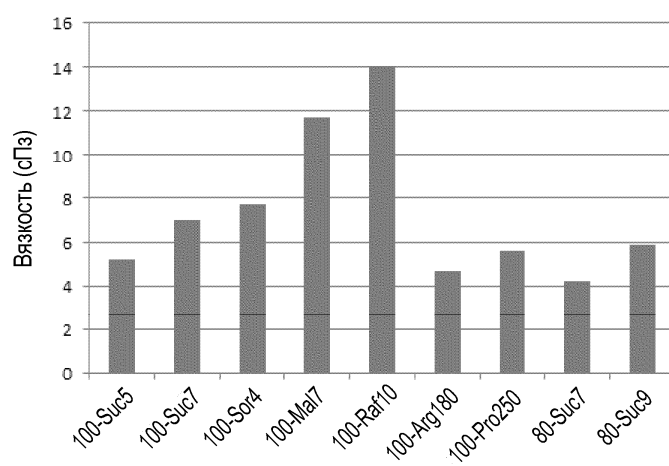
Фиг. 2



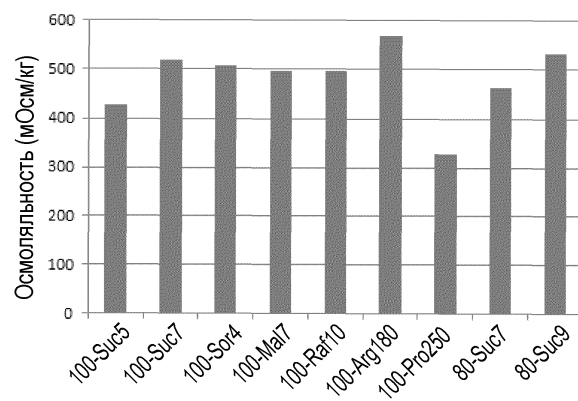
Фиг. 3



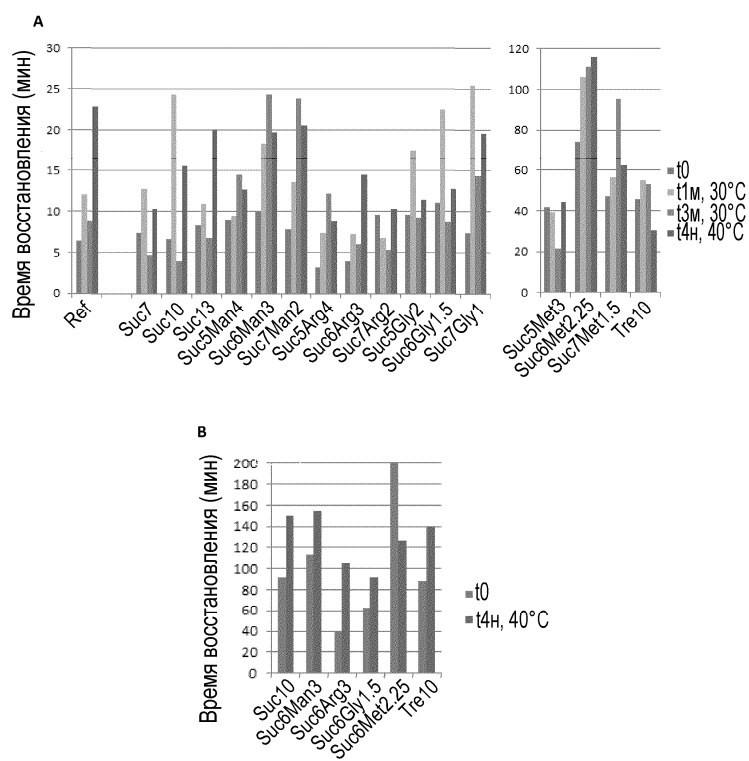
Фиг. 4



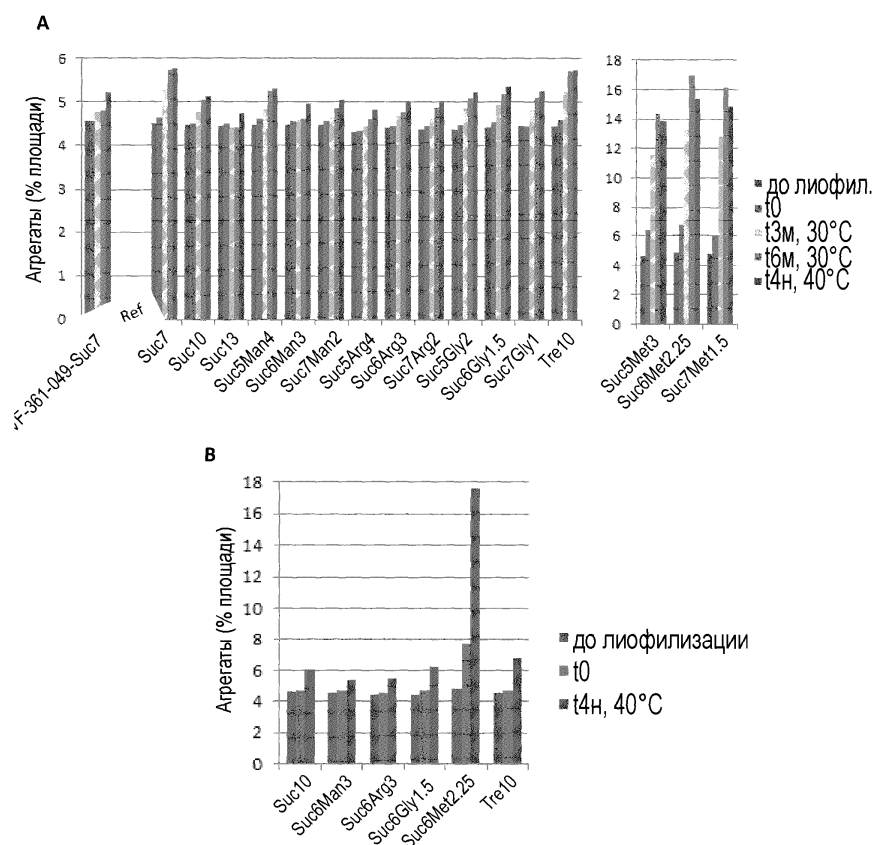
Фиг. 5



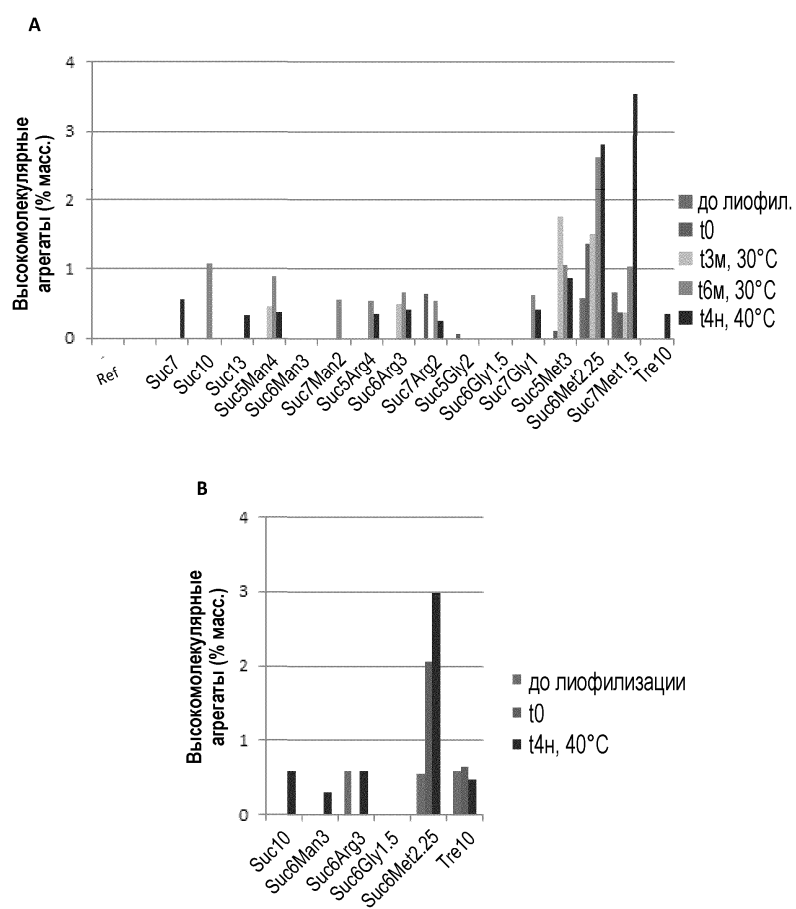
Фиг. 6



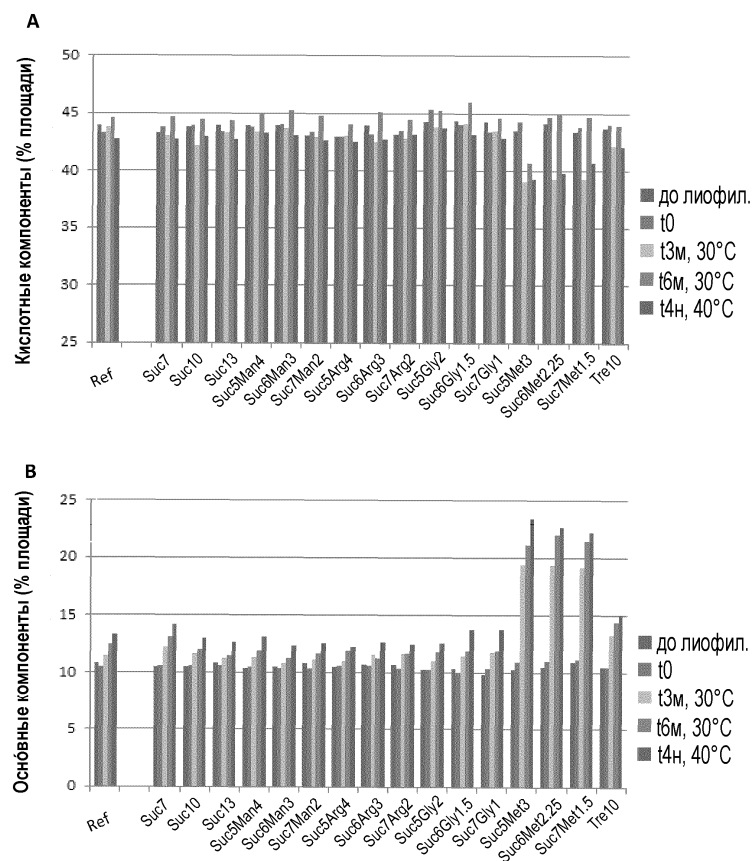
Фиг. 7



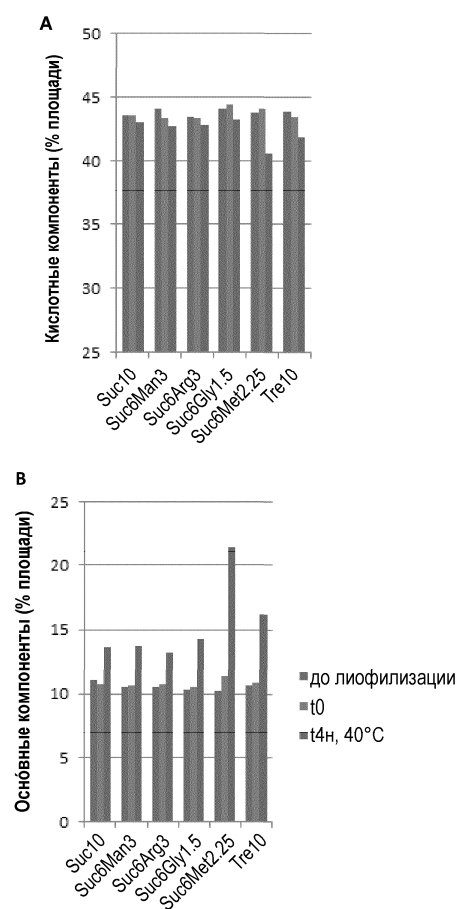
Фиг. 8



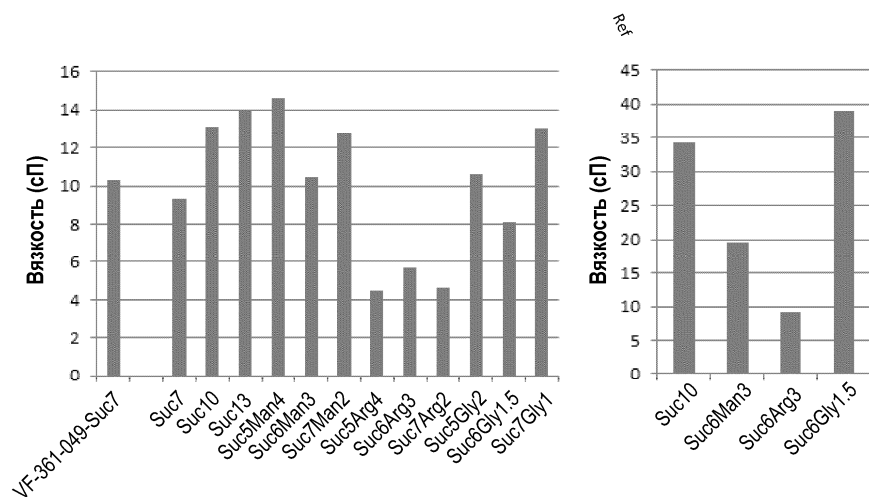
Фиг. 9



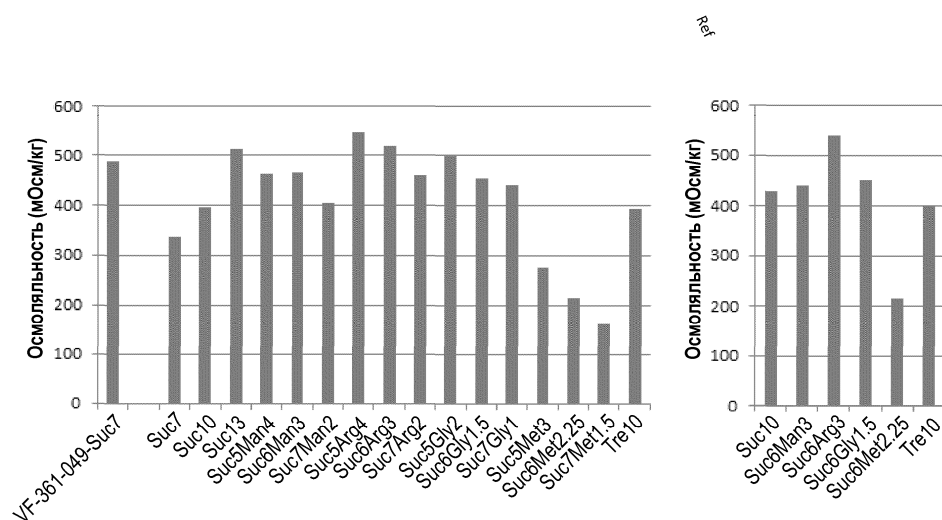
Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2